

Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, V. Babes, Bukarest, O. Bail, Prag, E. F. Bashford, London, E. v. Behring, Marburg, S. Belfanti, Mailand, A. Besredka, Paris, J. Bordet, Brüssel, A. Breinl, Liverpool, L. Brieger, Berlin, A. Calmette, Lille, A. Diendoné, München, R. Doerr, Wien, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Hamburg, S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, G. Gaffky, Hannover, M. v. Gruber, München, L. Haendel, Berlin-Lichterfelde, M. Hahn, Freiburg i. B., A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, K. Kalk, Königsberg i. Pr., S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Bern, W. Kruse, Leipzig, K. Landsteiner, Wien, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, E. Metschnikoff, Paris, L. Michaelis, Berlin, R. Muir, Glasgow, C. Moroschi, Pavia, P. Th. Müller, Graz, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. von Ostertag, Berlin, R. Paltauf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick, Wien, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, P. Schmidt, Gießen, Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Berlin, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Welchardt, Erlangen, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER
(Greifswald.)

R. KRAUS
(Buenos Aires.)

H. SACHS
(Frankfurt a. M.)

P. UHLENHUTH
(Straßburg i. E.)

Fünfundzwanzigster Band

Mit 6 Tafeln, 1 Figur und 26 Kurven im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1916

Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1. (Ausgegeben am 26. Juni 1916.)

	Seite
Kuhn, Philalethes, und Ebeling, E., Untersuchungen über die Par- agglutination. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Uhlen- huth).] Mit 1 Figur im Text	1
Leschly, W., Versuche über Komplement. II. Die komplexe Kon- stitution des Meerschweinchenserums. [Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen (Direktor: Dr. med. Th. Madsen)]	44

Heft 2. (Ausgegeben am 4. September 1916.)

Leschly, W., Versuche über Komplement. III. Die Komplemente verschiedener Tiere. [Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. Th. Madsen)]	107
Loeser, A., Ueber die Einwirkung einiger Chininderivate auf den Schweinerotlauf-Bacillus. [Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin]	140
Galli-Valerio, B., und Bornand, M., Hämagglutinine und Hämoly- sine in getrockneten Pilzen. [Aus dem Hygienisch-parasito- logischen Institut der Universität Lausanne]	154
Galli-Vallerio, B., und Messerli, F., Komplementbindungsversuche mit Kropfwasser. (Vorläufige Mitteilung.) [Aus dem Hygienisch- parasitologischen Institut der Universität Lausanne]	162
Bürger, Max, Beobachtungen über kutane Reaktionsercheinungen bei Schutzgeimpften. Mit 2 Kurven im Text	165
Massini, Rudolf, Ueber die anaphylaktische Reaktion des Meer- schweinchendarmes. [Aus der Medizinischen Klinik in Basel (Direktor: Professor Dr. R. Staehelin).] Mit 10 Kurven im Text	179
Friedberger, E., Bemerkung zu vorstehender Arbeit von Massini: Ueber die anaphylaktische Reaktion des Meerschweinchendarmes	183
Pfeiler, W., und Standfuß, R., Ueber Versuche zur Schutzimpfung gegen Schweinepest mit sensibilisiertem Virus. [Aus der Ab- teilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelm-Instituts für Land- wirtschaft zu Bromberg (Leiter: W. Pfeiler)]	184

20536

	Seite
Dymling, Otto , Ist die Ambozeptorquantität bei der v. Wassermannschen Reaktion gleichgültig? [Aus dem Laboratorium des Königlich-serafimerlazarettes, Stockholm (Vorstand: Privatdozent Dr. J. Tillgren)]	194

Heft 3. (Ausgegeben am 12. Oktober 1916.)

Leschly, W. , Versuche über Komplement. IV. Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration. [Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. med. Th. Madsen)]	203
Leschly, W. , Versuche über Konglutination. [Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. med. Th. Madsen)]	219
Bail, Oskar , Choleragift und antitoxische Zellwirkungen. [Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag]	248
Kafka, V. , Serologische Studien über die Vorgänge beim Ablauf des Dialyserversuches nach Abderhalden. [Aus dem Serologischen Laboratorium der Staatsirrenanstalt Friedrichsberg in Hamburg (Direktor: Prof. Dr. W. Weygandt)]	266
Nathan, Ernst , Ueber den Einfluß verschiedener Serumarten auf die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenkomplements durch Cobra-gift. [Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. Karl Herxheimer)]	301

Heft 4—6. (Ausgegeben am 12. Dezember 1916.)

Uhlenhuth und Fromme , Untersuchungen über die Aetiologie, Immunität und spezifische Behandlung der Weilschen Krankheit (Icterus infectiosus). [Aus dem Laboratorium des beratenden Hygienikers der . . . Armee.] Mit 6 Tafeln und 14 Kurven im Text	317
---	-----

Autorenverzeichnis.

Bail, Oskar 248.	Kafka, V. 266.
Bornand, B., s.: Galli-Valerio, B.	Kuhn, Philalethes. und Ebeling, E.
Bürger, Max 165.	1.
Dymling, Otto 194.	Leschly, W. 44, 107, 203, 219.
Ebeling, E., s.: Kuhn, Ph.	Loeser, A. 140.
Friedberger, E. 183.	Massini, Rudolf 179.
Fromme s.: Uhlenhuth.	Messerli, F., s.: Galli-Valerio, B.
Galli-Valerio, B., und Bornand, M.	Nathan, Ernst 301.
154.	Pfeiler, W., und Standfuß, R. 184.
Galli-Valerio, B., und Messerli, F.	Standfuß, R., s.: Pfeiler, W.
162.	Uhlenhuth und Fromme 317.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XXV. No. 1

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität
Straßburg (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

Untersuchungen über die Paragglutination.

Von

Prof. Dr. Philalethes Kuhn

und

Dr. E. Ebeling, Stabsarzt im Inf.-Regt. No. 18,
gefallen im Osten am 11. Oktober 1914.

Mit 1 Figur im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Dezember 1915.)

Mit der durch Kuhn und Woithe (1909) festgestellten Erscheinung der Paragglutination haben sich seit den Arbeiten von Kuhn, Gildemeister und Woithe (1911) eine Reihe von Forschern beschäftigt: unter anderen Rimpau (1911), Busson (1911), Gaethgens (1912), Ditthorn und Neumark (1913), Ebeling (1913), Lentz (1913), Busson (1914).

Ferner sind Versuche einer experimentellen Erzeugung der Erscheinung, die Kuhn, Gildemeister und Woithe im Tierkörper vornahmen und über deren Ergebnis sie in ihrer letzten Arbeit berichteten, auch von anderer Seite angestellt worden.

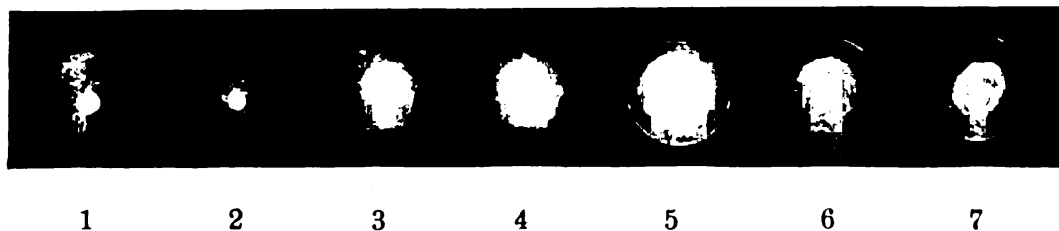
Während Kuhn, Gildemeister und Woithe bei der Einspritzung von Colibacillen in die Blutbahn von Kaninchen, die mit Flexnerbacillen immunisiert waren, in einem Falle eine gewisse Agglutinabilität eines Stammes erreicht hatten, die allerdings annähernd ebenso stark im Normalserum, wie im Flexnerserum war, hat Keysser nach dem Berichte von Lentz Colibacillen die Fähigkeit der Paragglutination beigebracht, indem er sie längere Zeit in Extrakten oder bakterienfrei gemachten alten Bouillonkulturen von Flexnerbacillen wachsen ließ. Näheres ist nicht mitgeteilt.

Auch Ebeling teilt ähnliche Versuche in vitro mit Colibacillen ohne Einzelheiten mit. Sie verliefen ergebnislos.

Sodann hat Busson in seiner zweiten Arbeit ausgedehnte Versuche zur Erzielung der Eigenschaft veröffentlicht. Er impfte je 1 l Nährbrühe mit den verschiedensten pathogenen Erregern der infektiösen Darmkrankheiten, ließ diese Kulturen 8—10 Tage wachsen und impfte dann in die lebenden oder durch Pasteurisieren abgetöteten Kulturen nachträglich Staphylokokken oder *Bacterium coli* ein. Es gelang ihm selbst nach monatelanger Dauer gemeinsamer Züchtung nicht, den zuletzt genannten Bakterien gemeinschaftliche, für das Agglutinin der anderen Stämme empfindliche Rezeptoren anzuzüchten. Dagegen hatten die vorhandenen und für die Art charakteristischen agglutininempfindlichen Rezeptoren eine gesteigerte Avidität und eine Erhöhung des Titors für das zugehörige Agglutinin erfahren.

Unsere Versuche begannen Ende März 1914, sie wurden durch den Krieg unterbrochen. Letzterer vereitelte auch die Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, die im August 1914 zu Bern geplant war und auf der wir die vorliegenden Ergebnisse vortragen wollten.

Bei der Feststellung der Agglutination haben wir auch die Sedimentierung geprüft, auf deren Wert Kuhn und Woithe hingewiesen haben. Sie ist in der Arbeit von Kuhn, Gildemeister und Woithe (s. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 31, Heft 2, p. 414—416) erläutert. Sie wurde in dem Sedimentoskop beobachtet, nachdem die Röhrchen 20 bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten. Agglutinierte Bakterien werden in Häutchenform auf dem Boden des Reagenzglases niedergeschlagen, nicht agglutinierte bilden in den Kuppen der Gläschen dicke Knöpfe. Zwischen reinen Häutchen und Knöpfen gibt es entsprechend stärkeren Serumverdünnungen mit nachlassender Wirkung verschiedene Uebergänge. In den folgenden Tabellen sind die Sedimente schematisch wiedergegeben.



1

2

3

4

5

6

7

Die verschiedenen Formen der Häutchen, die manchmal einen umgeschlagenen, manchmal einen eingerissenen Rand haben, sind nicht unterschieden, weil die Wiedergabe zu schwierig war und auch unnötig erschien. Die Methode erwies sich als sehr empfindlich, da wir nur solche Colistämme verwandten, die in der Kochsalzlösung und in den nicht beeinflussten Serumverdünnungen scharfe runde Knöpfe bildeten. Jede Krisselbildung zeigt uns bei ihnen also eine Beeinflussung an.

Die Colistämme waren frisch aus den Stühlen von Menschen gezüchtet. Es handelte sich um die Stämme 1, 1 a, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, a, L. Sie zeigten weder im Normalkaninchenserum noch in einem Immunserum Verklebung, mit Ausnahme der Stämme 6, 17, 20, L, 1 a. Bei dem erstgenannten trat im Sedimentoskop in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{20}$ Häutchenbildung und dementsprechend Agglutination nach dem Aufschütteln auf. Bei $\frac{1}{40}$ war die Verklebung nur noch ganz schwach im Agglutinoskop zu erkennen. Stamm 17 wurde im Flexnerserum bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$, im Y-Serum bis zur Verdünnung $\frac{1}{20}$, im Paratyphusserum bis zu $\frac{1}{20}$ undeutlich beeinflusst. Nur das Typhusserum hatte keinen Einfluß. Stamm 20 wurde von allen Immunsera beeinflusst; am meisten von einem Flexnerserum mit dem Titer $\frac{1}{10000}$, hier wirkte die Verdünnung $\frac{1}{1000}$ noch schwach, wie die Betrachtung des Sedimentes ergab. Die Agglutination war bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$ noch deutlich. Die Stämme L und 1 a zeigten im Typhus-, Paratyphus- und Gärtner Serum keinerlei, im Flexner- und Y-Serum nur bei der Verdünnung $\frac{1}{10}$ Agglutination. Die übrigen Stämme fielen auch in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit Knopfbildung in den Röhrchen nieder.

Wir versuchten zunächst eine Paragglutination dadurch zu erreichen, daß wir die harmlosen Bakterien in Fleischbrühekulturen der pathogenen verbrachten.

Versuch A.

17. IV. Die Stämme 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 wurden einzelnen Röhrchen zugesetzt, die vor etwa 2 Wochen mit Flexnerbacillen beimpft waren.

1*

Am 20. IV. wurden die Colistämme aus dem Gemisch durch Plattenausstrich wieder herausgezüchtet und am 21. IV. im Flexnerserum vom Titer $\frac{1}{10000}$ geprüft.

Nur der Stamm 9 zeigte in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ Häutchenbildung, nach dem Schütteln war weder bei ihm noch bei den anderen irgend etwas von Verklebung zu sehen.

Die Prüfung wurde am 30. IV. wiederholt. Jetzt zeigte der Stamm 9 Agglutination bis zur Verdünnung $\frac{1}{40}$. Die übrigen waren wiederum unbeeinflusst.

Ergebnis: Durch das Zusammenleben von 8 Colistämmen mit Flexnerbacillen in Fleischbrühe war während weniger Tage nur in einem Falle eine ganz schwache Verklebbarkeit entstanden, die sich nach 14 Tagen etwas steigerte und bis zur Verdünnung $\frac{1}{40}$ Agglutination ergab.

Versuch B.

Der Colistamm L wird am 17. III. einem Röhrchen mit Flexnerkultur zugesetzt und von hier am 28. III., 6. IV. und 15. IV. in weitere gleiche Röhrchen übergeimpft. Er gewinnt keine Verklebbarkeit.

Ergebnis: Ein Colistamm zeigt auch nach 4 Durchgängen in Flexnerbrühekulturen, die etwa einen Monat in Anspruch nahmen, keine Beeinflussung.

Gesamtergebnis der Versuche A bis B.

Versuche mit Brühekulturen ergaben die Möglichkeit der Erzielung schwacher Paragglutination, erschienen aber nicht aussichtsreich genug, um eine solche Paragglutination zu erzielen, wie sie bei den Colistämmen der Ruhrkranken beobachtet war.

Wir beschlossen daher, einen festen Nährboden zu verwenden. Wir fügten einem Kolben mit 100 ccm Brühe 1 Oese Flexnerbacillen hinzu. Nach 8-tägigem Wachstum wurden dem Kolben 2—3 g Agar hinzugefügt, der Inhalt erhitzt und in Röhrchen gefüllt. Diese wurden im Autoklaven sterilisiert und schräggelegt.

Versuch C.

Von einem Brüheröhrchen der am 15. IV. angelegten 4. Züchtung des Colistammes L (s. Versuch B) wird nach 7-tägigem Wachstum am 22. IV. eine Endoplatte beschickt und davon der Colistamm auf ein Flexner-Schrägagarröhrchen gebracht. Es ergab sich nach einigen Tagen keinerlei Verklebbarkeit.

Ergebnis: Ein Colistamm gewinnt nach 4 Züchtungen in Flexnerbrühe, einer auf gewöhnlicher Endoplatte und einer auf Flexneragar keine neuen Eigenschaften.

Versuch D.

Am 2. V. wird von der am 30. IV. gewonnenen Endoplatte des Versuches A eine Kultur des Coli 9 auf einem Flexner-Schrägagarröhrchen angelegt. Am 5. V. zeigt diese im Flexnerserum starke Agglutination, bis zur Verdünnung von $\frac{1}{1000}$ sofort, bis zur Verdünnung $\frac{1}{10000}$ nach einigen Minuten.

Ergebnis: Bei einem Colistamm wurde auf dem festen Flexnernährboden sofort nach wenigen Tagen eine hohe Verklebbarkeit erzielt, nachdem vorher eine Züchtung auf Endoplatte und ein 14-tägiger Aufenthalt in Flexnerbrühe vorausgegangen waren.

Versuch E.

Der Colistamm 1a wird am 31. III. auf Flexneragar gebracht. Am 15. IV. erfolgte die 2., am 21. IV. die 3. Züchtung auf dem gleichen Nährboden. Am 24. IV. ergibt die Prüfung in einem Y-Serum vom Titer $\frac{1}{10000}$ Verklebbarkeit bis zur Titergrenze.

Derselbe Stamm zeigt in einem Typhusserum vom Titer $\frac{1}{5000}$ und in einem Paratyphusserum vom gleichen Titer ebenfalls Agglutination; da nur Verdünnungen $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{200}$ angesetzt waren, so wurde nicht festgestellt, wie weit die Verklebbarkeit ging. Die angesetzten Röhrchen hatten Häutchen und zeigten nach dem Schütteln bei Betrachtung mit bloßem Auge Agglutination. Danach ist anzunehmen, daß die Beeinflussung noch erheblich weiterging.

Ergebnis: Ein Colistamm zeigte nach drei Durchgängen durch Flexneragar in einem Y-Serum Verklebbarkeit bis zur Titergrenze und in einem Typhus- und Paratyphusserum ebenfalls erhebliche Beeinflussung.

Versuch F.

Der Colistamm a wurde am 6. IV. zum ersten Male auf ein Flexneragarröhrchen verimpft. Am 21. IV. erfolgte die 2. Züchtung auf Flexneragar. Es trat keine Agglutination ein.

Ergebnis: Ein Colistamm gewinnt nach zwei Durchgängen auf Flexneragar keine Verklebbarkeit.

Versuch G.

Am 22. IV. wird der Colistamm 17 von der Endoplatte auf Flexneragar verimpft. Schon am 23. IV. zeigt sich im Flexner- und Y-Serum $\frac{1}{50}$ starke Agglutination gegenüber der von Hause aus bestehenden undeutlichen. Am 23. IV. wird die 2., am 24. IV. die 3. Züchtung auf Flexneragar ausgeführt. Von dem spezifischen Nährboden entnommene Kulturmasse scheint in Kochsalzlösung spontan zu verkleben. Es wird zunächst eine Endoplatte angelegt.

Auf ein gewöhnliches Agarröhrchen weitergeimpft, wird der Stamm vom Flexnerserum noch bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$ beeinflusst. Er zeigt im Sedimentoskop Häutchen mit Knopf und nach dem Schütteln schwache Flockenbildung. In demselben Paratyphusserum, in dem der Stamm 1a geprüft wurde (vgl. den Versuch E), trat bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$ Häutchenbildung und Agglutination, bei $\frac{1}{200}$ Häutchen mit Knopf und Agglutination auf. In dem Typhusserum, das ebenfalls bei Stamm 1a angewendet wurde, zeigte sich in den Röhrchen mit den Verdünnungen $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{200}$ Knopfbildung mit Krisseln, Agglutination deutlich in der Verdünnung $\frac{1}{10}$, undeutlich in der Verdünnung $\frac{1}{20}$.

Ergebnis: Ein von vornherein empfindlicher Colistamm gewinnt durch Verimpfung auf

Flexneragar deutliche Verklebbarkeit, die sich bereits bei dem ersten Durchgang zeigt. Die Beeinflussung im Flexnerserum steigt von der Verdünnung $\frac{1}{50}$ bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$. Gleichzeitig ist die Verklebbarkeit für Paratyphusserum bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$ gestiegen, während Typhusserum nur bis zur Verdünnung $\frac{1}{20}$ Flockenbildung hervorruft.

Versuch H.

Am 22. IV. wird der Colistamm 11 von der Endplatte auf Flexneragar gebracht. Am 23. IV. zeigt er weder im Flexner- noch im Y-Serum irgendwelche Verklebung. Am 27. IV. zeigt er auch nach der 2. Züchtung keine Beeinflussung.

Ergebnis: Ein Colistamm zeigt auch nach zwei Durchgängen durch Flexneragar keine Beeinflussung.

Versuch I.

Am 25. IV. wird der Colistamm 19 auf Flexneragar verimpft. Am 27. IV. zeigte er im Y-Serum bei der Verdünnung $\frac{1}{50}$ deutliche Agglutination. Am selben Tage kommt er auf ein zweites Flexneragarröhrchen. Eine Steigerung der Verklebbarkeit scheint nicht einzutreten.

Ergebnis: Ein Colistamm zeigt bereits nach dem ersten Flexneragardurchgang in der Verdünnung $\frac{1}{50}$ des Y-Serums Verklebbarkeit, die durch einen weiteren Durchgang auf dem besonderen Nährboden nicht gesteigert wird.

Versuch K.

Am 25. IV. wird Coli 21 auf Flexneragar verimpft. Am 27. IV. zeigt sich im Y-Serum bei der Verdünnung $\frac{1}{50}$ undeutliche Agglutination.

Ergebnis: Ein Colistamm zeigt nach dem ersten Durchgang auf Flexneragar undeutliche Flockenbildung im fünfzigfach verdünnten Y-Serum.

Gesamtergebnis der Versuche C bis K.

Zur Erzeugung der Paragglutination erwies sich Nähragar geeignet, der mit der Brühekultur des pathogenen Stammes hergestellt ist.

Die erzeugte Paragglutination kann so stark sein, daß die Titergrenze für das zugehörige Serum erreicht wird.

Sie erstreckt sich auch auf die Sera anderer pathogener Stämme, ähnlich wie die Paragglutination der aus dem Menschenkörper gewonnenen Stämme nicht nur in den zugehörigen, sondern auch in ferner stehenden Sera auftritt.

Unter 8 Colistämmen finden sich 5 (1a, 9, 17, 19, 21), die durch Verimpfung auf Flexneragar verklebbar werden oder eine Steigerung ihrer geringen Verklebbarkeit erfahren, wie 17. Drei Stämme (a, L, 11), also die Minderzahl, zeigen sich nicht beeinflußt.

Um nunmehr planmäßige Versuche auf verschiedenen Nährböden pathogener Bakterien in größerem Umfange Schritt für Schritt durchzuführen, werden unter den auf Flexneragar geprüften Stämmen 1a, 9 und 17 ausgewählt, von denen die beiden erstgenannten von Hause aus nicht zu beeinflussen waren, während der letztgenannte bereits von dem gewöhnlichen Schrägagarröhrchen aus eine gewisse Verklebbarkeit zeigt. Ferner wird noch Coli 20 ausgesucht, welches bereits von der Gewinnung an eine ziemlich starke Verklebbarkeit erkennen ließ.

Versuch L.

Um den Einwand auszuschalten, daß etwa durch mehrfache einfache Agardurchgänge Beeinflussungen entstehen könnten, werden zunächst 4 solcher Züchtungen vorgenommen; in keinem Falle ergibt sich eine Verstärkung der Verklebbarkeit. (Vgl. Tabelle I—XVI.) Coli 1a, 9, 17 werden nicht einmal in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ irgendwie beeinflußt.

Coli 20 zeigt im Flexnerserum bis zur Verdünnung $\frac{1}{1000}$ Beeinflussung des Sedimentes, Agglutination nach dem Schüt-

teln bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$. Im Y-Serum ist Krisselbildung und schwache Agglutination bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$ vorhanden, im Typhusserum bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$ Krisselbildung, bis $\frac{1}{100}$ schwache Agglutination. Im Paratyphusserum geht die Krisselbildung bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$, die Agglutination schwach bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$.

Versuch M.

Die genannten Colistämme werden einmal auf Y-Agarröhrchen gebracht und von da mehrfach auf gewöhnliche Agarröhrchen. Diese Durchgangsstämme werden in verschiedenen besonderen Sera geprüft. Die Tabellen I—XVI geben die Befunde übersichtlich wieder. ++ zeigt Agglutination bei Betrachtung der Röhrchen mit bloßem Auge an, + bezeichnet eine mit dem Agglutinoskop deutliche, ± eine undeutliche Verklebbarkeit. Bei 1a, 9 und 17 zeigt es sich, daß die 2. gewöhnliche Agarzüchtung von fast allen Sera am meisten beeinflußt wird. Mit der 3. nimmt die Verklebbarkeit in der Regel ab, bei der 4. ist sie nahezu erloschen. Bei 17 verhält sich die 2., 3. und 4. Züchtung im Y- und Typhusserum nahezu gleich, die 5. dagegen zeigt im Typhus-, Flexner- und Y-Serum ein Nachlassen der Verklebbarkeit. Bei Coli 20 ist im Typhus-, Y-, Paratyphusserum nur eine ganz geringe Verstärkung der Verklebbarkeit festzustellen, und zwar wieder bei der 2. Züchtung. Im Flexnerserum ist keine Verstärkung, wohl aber bei der 1. Züchtung eine deutliche Minderung wahrzunehmen. Auch im Y-Serum ist die 1. Züchtung schwächer beeinflußt, während die 2., 3. und 4. in der Sedimentation weitergeht als die Ausgangsagarkultur. Im Typhusserum zeigt die Agglutination der 1. Züchtung gleichfalls einen Rückgang.

Ergebnis: Bei der einmaligen Verimpfung der Colistämme auf Y-Agar werden Durchgangsstämme gewonnen, welche nach weiterer Verimpfung auf gewöhnlichen Agar bei der 1. Züchtung keine Steigerung, bei der 2. eine Steigerung und bei den weiteren eine allmähliche Abnahme der Agglutinabilität erkennen lassen.

Tabelle I.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer						
4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	10 000	—	—	—	—	—	—
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	3	2	1	1	1	1
26. VI.	"	"	I	2	"	"	+ 4	\pm 3	—	—	—	—
28. VI.	"	"	I	3	"	"	+ 4	\pm 3	—	—	—	—
30. VI.	"	"	I	4	"	"	\pm 4	—	—	—	—	—

Tabelle II.

4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	—	—	—	—	—	—
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	+ 5	\pm 3	—	—	—	—
26. VI.	"	"	I	2	"	10 000	+ 5	+ 4	—	—	—	—
28. VI.	"	"	I	3	"	"	\pm 4	\pm 3	—	—	—	—
30. VI.	"	"	I	4	"	"	—	—	—	—	—	—

Tabelle III.

4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4	Typhus	20 000	—	—	—	—	—	—
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	+ 5	\pm 3	—	—	—	—
26. VI.	"	"	I	2	"	"	+ 5	\pm 4	—	—	—	—
28. VI.	"	"	I	3	"	"	+ 5	—	—	—	—	—
30. VI.	"	"	I	4	"	"	—	—	—	—	—	—

Tabelle IV.

4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4	Para- typhus B	20 000	—	—	—	—	—	—
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	\pm 5	—	—	—	—	—
26. VI.	"	"	I	2	"	"	+ 4	\pm 4	—	—	—	—
28. VI.	"	"	I	3	"	"	+ 4	\pm 3	—	—	—	—
30. VI.	"	"	I	4	"	"	—	—	—	—	—	—

Tabelle V.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer						
4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	5 000	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	10 000	— 2	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
26. VI.	„	„	I	2	„	„	\pm 4	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
28. VI.	„	„	I	3	„	„	\pm 3	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
30. VI.	„	„	I	4	„	„	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1

Tabelle VI.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	10 000	— 2	— 2	— 1	— 1	— 1	— 1
26. VI.	„	„	I	2	„	„	— 3	— 2	— 1	— 1	— 1	— 1
28. VI.	„	„	I	3	„	„	— 3	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
30. VI.	„	„	I	4	„	„	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1

Tabelle VII.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Typhus	20 000	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	„	— 5	— 2	— 2	— 1	— 1	— 1
26. VI.	„	„	I	2	„	„	\pm 6	\pm 4	\pm 3	— 1	— 1	— 1
28. VI.	„	„	I	3	„	„	— 4	— 2	— 1	— 1	— 1	— 1
30. VI.	„	„	I	4	„	„	— 2	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1

Tabelle VIII.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Para- typhus B	20 000	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	„	\pm 5	— 3	— 1	— 1	— 1	— 1
26. VI.	„	„	I	2	„	„	\pm 5	— 3	— 2	— 1	— 1	— 1
28. VI.	„	„	I	3	„	„	— 3	— 3	— 1	— 1	— 1	— 1
30. VI.	„	„	I	4	„	„	— 2	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1

Tabelle IX.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		1/10	1/20	1/50	1/100	1/300	1/600	1/1000
			spez.	unspez.	Stamm	Titer							
4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	5 000	+	+	±	—	—	—	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	±	+	+	—	—	—	.
26. VI.	"	"	I	2	"	10 000	++	+	+	+	±	—	.
27. VI.	"	"	I	3	"	"	+	+	+	+	—	—	.
28. VI.	"	"	I	4	"	"	+	+	+	±	—	—	.
29. VI.	"	"	I	5	"	"	+	+	+	—	—	—	.

Tabelle X.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	+	±	—	—	—	—	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	+	±	—	—	—	—	.
26. VI.	"	"	I	2	"	10 000	++	+	+	+	—	—	.
27. VI.	"	"	I	3	"	"	+	+	+	+	—	—	.
28. VI.	"	"	I	4	"	"	+	+	+	+	—	—	.
29. VI.	"	"	I	5	"	"	+	+	+	±	—	—	.

Tabelle XI.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Typhus	20 000	—	—	—	—	—	—	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	+	+	±	—	—	—	.
26. VI.	"	"	I	2	"	"	+	+	±	—	—	—	.
27. VI.	"	"	I	3	"	"	+	+	±	—	—	—	.
28. VI.	"	"	I	4	"	"	+	+	±	—	—	—	.
29. VI.	"	"	I	5	"	"	+	±	—	—	—	—	.

Tabelle XII.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Para- typhus B	20 000	±	±	—	—	—	—	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	+	+	±	—	—	—	.
26. VI.	"	"	I	2	"	"	+	+	±	—	—	—	.
27. VI.	"	"	I	3	"	"	+	+	±	—	—	—	.
28. VI.	"	"	I	4	"	"	+	+	±	—	—	—	.
29. VI.	"	"	I	5	"	"	+	±	±	—	—	—	.

Tabelle XIII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	10 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	5 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
26. VI.	"	"	I	2	"	10 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$
27. VI.	"	"	I	3	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$
28. VI.	"	"	I	4	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{6}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$
29. VI.	"	"	I	5	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$

Tabelle XIV.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
26. VI.	"	"	I	2	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
27. VI.	"	"	I	3	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
28. VI.	"	"	I	4	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
29. VI.	"	"	I	5	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$

Tabelle XV.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Typhus	20 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{6}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
26. VI.	"	"	I	2	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
27. VI.	"	"	I	3	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
28. VI.	"	"	I	4	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{6}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
29. VI.	"	"	I	5	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$

Tabelle XVI.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Para- typhus B	20 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
26. VI.	"	"	I	2	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
27. VI.	"	"	I	3	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
28. VI.	"	"	I	4	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{6}$	$\frac{\pm}{6}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
29. VI.	"	"	I	5	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$

Versuch N.

Sodann wurden die spezifischen Züchtungen auf dem Y-Nährboden bis zur 14. fortgesetzt und bei Coli 1a und 9 mit Flexner-, Y-, Typhus- und Paratyphusserum geprüft. Die 8., 9., 10., 11., 13. wurde nicht im Flexner-, Y- und Paratyphusserum, die 6.—14. einschließlich nicht im Typhusserum geprüft.

Bei Stamm 17 und 20 wurde der Versuch mit der 12. Züchtung beendet. Bei diesen Stämmen wurde die 8., 9., 10. und 11. ebenfalls nicht im Flexner-, Y- und Paratyphusserum, die 6. bis zur 12. einschließlich nicht im Typhusserum geprüft. Die Prüfung jeder Züchtung bis zur 7. einschließlich fand bei allen Stämmen von einer gewöhnlichen Agarabimpfung aus statt. Die 12. und 14. wurden von dem spezifischen Agar aus geprüft (Tabellen XVII—XXXII).

Bei Coli 1a war in allen Sera eine Zunahme der Verklebbarkeit bis zur 5. oder 6. Züchtung wahrnehmbar. Die Sedimentation wurde durch Typhus- und Paratyphusserum (Titer 20 000) bis zur Verdünnung von $\frac{1}{500}$ beeinflusst. Die Agglutination war bei Anwendung dieser Sera bis zur Verdünnung von $\frac{1}{50}$ deutlich. Die Ruhrsera wirkten nicht so weit; wenn man aber in Betracht zieht, daß ihr Titer nur bis 5000 ging, so muß man ihre Wirkung ähnlich einschätzen. Von der 7. an nimmt die Verklebbarkeit wieder ab.

Bei Coli 9 ist die Zunahme in Flexner- und Y-Serum bis zur 7. Züchtung zu bemerken, während sie im Paratyphusserum bei der 5. am größten ist. Bei der 7. ist in diesem Serum wieder eine leichte Zunahme gegenüber der 6. Beim Typhusserum geht die Zunahme ebenfalls bis zur 5., der letzten geprüften Züchtung. Die Sedimentation wurde im Flexnerserum (Titer 5000) bis zur Verdünnung $\frac{1}{1000}$ beeinflusst, die Agglutination war in diesem Serum bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$ deutlich, bis $\frac{1}{1000}$ schwach. Die anderen Sera erwiesen sich als schwächer.

Bei Coli 17 liegt der Höhepunkt wieder bei der 5. Züchtung, nur im Flexnerserum sind die 5. und 6. gleich umfangreich. In letzterem Serum reicht die Beeinflussung des Sedimentes bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$, die deutliche Agglutination

Tabelle XVII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4 ¹⁾	Psd.-Dys. Flexner	10 000	—	—	—	—	—	—	.	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	3	1	1	1	1	1	.	.
26. VI.	"	"	II	1	"	"	± 4	3	2	1	1	1	.	.
28. VI.	"	"	III	1	"	"	± 4	± 3	3	2	1	1	.	.
30. VI.	"	"	IV	1	"	5 000	± 4	3	2	1	1	1	.	.
1. VII.	"	"	V	1	"	"	± 5	± 5	± 5	4	3	1	.	.
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	± 4	± 4	3	3	1	1	1	.
6. VII.	"	"	VII	1	"	"	± 4	± 4	3	1	1	1	1	1
8. VII.	"	"	XII	—	"	"	± 4	± 4	± 3	1	1	1	.	.
10. VII.	"	"	XIV	— ²⁾	"	"	± 7	± 3	2	1	1	1	1	.

1) NaCl —

2) NaCl —

Tabelle XVIII.

4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4 ¹⁾	Pseudo- dysent. y	5 000	—	—	—	—	—	—	.	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	± 5	± 3	1	1	1	1	.	.
26. VI.	"	"	II	1	"	"	± 5	± 3	± 3	2	1	1	.	.
28. VI.	"	"	III	1	"	"	± 5	± 3	± 3	2	1	1	.	.
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	± 5	± 3	± 3	2	1	1	.	.
1. VII.	"	"	V	1	"	"	± 4	± 4	± 3	2	1	1	.	.
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	± 5	± 4	± 4	± 3	± 1	1	.	.
6. VII.	"	"	VII	1	"	"	± 5	± 4	± 4	3	1	1	1	.
8. VII.	"	"	XII	—	"	"	± 7	± 3	3	1	1	1	.	.
10. VII.	"	"	XIV	— ²⁾	"	"	± 7	± 4	± 3	1	1	1	.	.

1) NaCl —

2) NaCl —

bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$. Dieselben Wirkungen hat das Typhus- und das Paratyphusserum, während das Y-Serum zurücksteht. Dabei ist wieder zu beachten, daß das Typhus-

Tabelle XIX.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4 ¹⁾	Typhus	20 000	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	·	·
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	+ 4	± 3	— 2	— 1	— 1	— 1	·	·
26. VI.	"	"	II	1	"	"	+ 5	+ 5	— 4	— 3	— 1	— 1	·	·
28. VI.	"	"	III	1	"	"	+ 5	+ 5	± 5	— 4	— 3	— 1	·	·
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	+ 5	+ 5	± 5	— 4	— 3	— 1	·	·
1. VII.	"	"	V	1	"	"	+ 5	+ 5	+ 5	± 5	— 5	— 3	·	·
10. VII.	"	"	XIV	1	"	5 000	+ 4	+ 3	± 3	— 2	— 1	— 1	·	·
1) NaCl $\frac{1}{1}$ Normal —							— 1	— 1	— 1	— 1				

Tabelle XX.

4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4 ¹⁾	Para- typhus B	20 000	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	— 1	·	·
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	„	\pm 5	— 3	— 2	— 1	— 1	— 1	·	·
26. VI.	„	„	II	1	„	„	\pm 4	— 3	— 3	— 2	— 1	— 1	·	·
28. VI.	„	„	III	1	„	„	+ 5	\pm 5	— 4	— 3	— 2	— 1	·	·
30. VI.	„	„	IV	1	„	„	+ 5	+ 5	\pm 4	— 3	— 2	— 1	·	·
1. VII.	„	„	V	1	„	„	+ 7	+ 5	+ 5	— 5	— 3	— 2	·	·
3. VII.	„	„	VI	1	„	„	+ 5	+ 5	\pm 5	\pm 5	— 3	— 2	— 1	·
6. VII.	„	„	VII	1 ²⁾	„	„	+ 5	+ 5	\pm 4	— 4	— 2	— 2	— 1	— 1
8. VII.	„	„	XII	—	„	„	++ 5	+ 5	+ 4	\pm 3	— 2	— 1	·	·
10. VII.	„	„	XIV	—	„	„	+ 5	\pm 4	— 4	— 1	— 1	— 1	— 1	·
1) NaCl $\frac{1}{1}$ 2) NaCl $\frac{1}{1}$ Normal							—	\pm 2	— 2	— 2	— 1			

und Paratyphusserum den Titer 20 000, das Y-Serum ebenso wie das Flexnerserum den Titer 5000 hat.

Tabelle XXI.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 9	Agar	—	4 ¹⁾	Psd.-Dys. Flexner	5 000	—	—	—	—	—	—	.	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	10 000	—	—	—	—	—	—	.	.
26. VI.	"	"	II	1	"	"	—	—	—	—	—	—	.	.
28. VI.	"	"	III	1	"	5 000	+	+	+	+	±	—	.	.
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	+	+	+	+	+	±	—	.
1. VII.	"	"	V	1	"	"	+	+	+	+	+	±	—	.
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	+	+	+	+	+	+	—	.
6. VII.	"	"	VII	1 ²⁾	"	"	+	+	+	+	+	+	±	—
8. VII.	"	"	XII	—	"	"	+	+	+	+	+	±	.	.
10. VII.	"	"	XIV	—	"	"	±	+	+	+	±	—	—	.

1) NaCl $\frac{1}{1}$ 2) NaCl $\frac{1}{1}$

Tabelle XXII.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	—	—	—	—	—	—	.	.
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	„	—	—	—	—	—	—	.	.
26. VI.	„	„	II	1	„	„	—	±	±	—	—	—	.	.
28. VI.	„	„	III	1	„	„	±	+	+	±	—	—	.	.
30. VI.	„	„	IV	1	„	„	±	+	+	+	+	—	.	.
1. VII.	„	„	V	1	„	„	±	+	+	+	±	—	.	.
3. VII.	„	„	VI	1	„	„	±	+	+	+	+	—	—	.
6. VII.	„	„	VII	1	„	„	±	+	+	+	+	±	1	1
8. VII.	„	„	XII	—	„	„	±	+	+	+	+	—	.	.
10. VII.	„	„	XIV	—	„	„	—	—	—	—	—	—	.	.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XXV.

2

Bei Coli 20 liegt für Flexner-, Y- und Typhusserum der Höhepunkt ebenfalls in der 5., nur im Paratyphusserum steigt die Beeinflußbarkeit bis zur 7. Züchtung. Die Zunahme der Verklebbarkeit ist aber in jedem Falle ganz unbedeutend.

Tabelle XXIII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 9	Agar	—	4 ¹⁾	Typhus	20 000	—	—	—	—	—	—	—	—
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	„	—	—	—	—	—	—	—	—
26. VI.	„	„	II	1	„	„	+	±	±	—	—	—	—	—
28. VI.	„	„	III	1	„	„	+	+	+	±	—	—	—	—
30. VI.	„	„	IV	1	„	„	+	+	+	±	—	—	—	—
1. VII.	„	„	V	1	„	„	+	+	+	+	±	±	—	—
10. VII.	„	„	XIV	—	„	2 000	±	—	—	—	—	—	—	—
1) Normal							—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXIV.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung	spez.	unspez.	Serum	Titer	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Para-	20 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24. VI.	„	y-Agar	I	1	typhus B	„	±	—	—	—	—	—	—	—	—
26. VI.	„	„	II	1	„	„	+	+	+	±	—	—	—	—	—
28. VI.	„	„	III	1	„	„	+	+	+	±	—	—	—	—	—
30. VI.	„	„	IV	1	„	„	+	+	+	±	—	—	—	—	—
1. VII.	„	„	V	1	„	„	+	+	+	±	±	—	—	—	—
3. VII.	„	„	VI	1	„	„	+	+	+	±	±	—	—	—	—
6. VII.	„	„	VII	1 ¹⁾	„	„	+	+	+	±	±	—	—	—	—
8. VII.	„	„	XII	—	„	„	+	+	+	±	±	—	—	—	—
10. VII.	„	„	XIV	—	„	„	+	±	—	—	—	—	—	—	—
1) Normal							—	+	+	±	—	—	—	—	—

Die 12. Züchtung zeigt bei allen Stämmen meist ein Zurückgehen der Agglutinabilität, nur einmal bei Coli 1a im Paratyphusserum den höchsten vorhergehenden Stand. Die 14. ist sogar durchweg schwächer ausgefallen als die vorhergehenden.

Tabelle XXV.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	5 000	+	+	±	—	—	—	.	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	±	+	+	—	—	—	.	.
26. VI.	"	"	II	1	"	10 000	+	+	+	±	—	—	—	.
28. VI.	"	"	III	1	"	5 000	+	+	±	—	—	—	—	.
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	+	+	+	—	—	—	—	.
1. VII.	"	"	V	1	"	"	+	+	+	+	±	—	—	.
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	+	+	+	+	±	—	—	.
6. VII.	"	"	VII	1	"	"	+	+	+	+	±	—	—	.
8. VII.	"	"	XII	—	"	"	+	+	±	—	—	—	.	.

Tabelle XXVI.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Pseudo-dysent. y	5 000	+	±	—	—	—	—	.	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	+	±	—	—	—	—	.	.
26. VI.	"	"	II	1	"	"	±	±	—	—	—	—	.	.
28. VI.	"	"	III	1	"	"	+	+	±	—	—	—	—	—
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	+	+	+	—	—	—	—	—
1. VII.	"	"	V	1	"	"	+	+	+	±	—	—	—	—
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	+	+	+	—	—	—	—	—
6. VII.	"	"	VII	1	"	"	+	+	—	—	—	—	—	—
8. VII.	"	"	XII	— ¹⁾	"	"	+	+	—	—	—	—	.	.

1) NaCl $\frac{1}{1}$

2*

Bei allen 4 Stämmen wurde die Wirkung eines Normalkaninchensерums auf die 4. gewöhnliche und auf die 7. Y-Züchtung ausprobt. Die Tabellen XXVII, XXVIII, XXXI, XXXII geben darüber Auskunft. Auch für das Normalserum ist die Verklebbarkeit dieser Züchtung gestiegen, aber bei weitem nicht in dem Maße wie für die Immunsera.

Tabelle XXVII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 17	Agar	—	4 ¹⁾	Typhus	20 000	—	—	—	—	—	—	·	·
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	„	+	+	±	—	—	—	·	·
							4	4	3	1	1	1	·	·
26. VI.	„	„	II	1	„	„	+	±	—	—	—	—	·	·
							5	5	2	1	1	1	·	·
28. VI.	„	„	III	1	„	„	+	±	—	—	—	—	·	·
							4	4	2	2	1	1	·	·
30. VI.	„	„	IV	1	„	„	+	+	±	—	—	—	·	·
							5	5	5	3	2	1	·	·
1. VII.	„	„	V	1	„	„	++	+	+	+	±	—	·	·
							5	4	4	4	2	1	·	·
3. VII.	„	„	VI	1	„	„	·	·	·	·	·	·	·	·
1) Normal —							+	±	—	—	—	—		
							3	2	2	1	1	1		

Tabelle XXVIII.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Para- typhus B	20 000	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
24. VI.	„	y-Agar	I	1	„	„	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{—}{4}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
26. VI.	„	„	II	1	„	„	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$
28. VI.	„	„	III	1	„	„	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$
30. VI.	„	„	IV	1	„	„	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{—}{5}$	$\frac{—}{4}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$
1. VII.	„	„	V	1	„	„	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$
3. VII.	„	„	VI	1	„	„	$\frac{++}{6}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$
6. VII.	„	„	VII	1 ¹⁾	„	„	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{—}{4}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{—}{1}$
8. VII.	„	„	XII	1	„	„	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{—}{4}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
1) Normal —							$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{—}{4}$	$\frac{—}{3}$				

Ergebnis: Auf Y-Schräggarröhrchen wird bei 3 Stämmen, die von Hause aus gar nicht oder nur schwach zu beeinflussen sind, eine erhebliche Paragglutination erzielt. Diese ist in 2 Fällen

Tabelle XXIX.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{3000}$	$\frac{1}{5000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer									
4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	10 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	5 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{1}$	—	—	—	—	.
26. VI.	"	"	II	1	"	10 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	—	—	—	.
28. VI.	"	"	III	1	"	5 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	.
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	—	—	—	—	.
1. VII.	"	"	V	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	—	—	—	—	.
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	.
6. VII.	"	"	VII	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	—	—	—	—	.
8. VII.	"	"	XII	—	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	—	—	.	.	.

Tabelle XXX.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Pseudo-dysent. y	5 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	—	.
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	—	—	—	—	—	.
26. VI.	"	"	II	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	—	.
28. VI.	"	"	III	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{6}$	—	—	—	—	.
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	—	—	—	—	.
1. VII.	"	"	V	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	—	—	—	—	.
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	.
6. VII.	"	"	VII	1	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	—	.
8. VII.	"	"	XII	— ¹⁾	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	—	.	.	.

1) NaCl $\frac{—}{1}$

in einem zugehörigen Serum am meisten ausgesprochen, während das letztere im 3. Falle nicht besonders hervortritt. Die Zunahme der Erscheinung ist begrenzt. Der Höhepunkt liegt meist bei der 5. Züchtung. Von da ab nimmt die Agglutinabilität ab.

Tabelle XXXI.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer									
4. VI.	Coli 20	Agar	—	4 ¹⁾	Typhus	20 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{7}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
26. VI.	"	"	II	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
28. VI.	"	"	III	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{7}$	$\frac{-}{7}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
1. VII.	"	"	V	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{7}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$

1) Normal — $\frac{+}{7}$ $\frac{\pm}{5}$ $\frac{-}{3}$ $\frac{-}{1}$ $\frac{-}{1}$ $\frac{-}{1}$

Tabelle XXXII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung	spez.	unspez.	Stamm	Titer	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$
4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Para-	20 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
24. VI.	"	y-Agar	I	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
26. VI.	"	"	II	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
28. VI.	"	"	III	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
30. VI.	"	"	IV	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
1. VII.	"	"	V	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
3. VII.	"	"	VI	1	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
6. VII.	"	"	VII	1 ¹⁾	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
8. VII.	"	"	XII	—	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$

1) Normal — $\frac{+}{5}$ $\frac{+}{4}$ $\frac{-}{4}$ $\frac{-}{4}$

Bei einem Stamm mit einer überkommenen ausgeprägten Paragglutinabilität wird unter denselben Bedingungen nur eine geringe Zunahme erzielt.

Die Zunahme ist spezifisch, sie ist für Normal-kaninchenserum viel geringer als für Immunsera.

Versuch O.

Dieselbe Versuchsreihe, wie die vorhergehende, wurde noch einmal mit frischen Y-Agarnährböden angesetzt (Tabellen XXXIII—XLVIII). Es wurden die 7. und 9. Züchtung geprüft. Bei Coli 1a wird die Sedimentation bei der 7. durch ein Flexnerserum vom Titer 5000 bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$, in der 9. bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$ beeinflußt. Die Agglutination reicht deutlich in beiden bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$. Im Y-Serum ist die Sedimentation bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$ beeinflußt, die Agglutination bis zur Verdünnung von $\frac{1}{100}$ deutlich. Die 9. ist in diesem Serum nicht geprüft. Im Paratyphusserum schneidet der Einfluß auf die Sedimentation in der Verdünnung $\frac{1}{500}$ bei der 7., in der Verdünnung $\frac{1}{200}$ bei der 9. Züchtung ab. Die Agglutination reicht in beiden deutlich bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$. Im Normalkaninchenserum ist deutliche Agglutination nur bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$ vorhanden. Die Sedimentation ist bei dem 7. Durchgang nicht über die Verdünnung $\frac{1}{100}$ hinaus geprüft. Beim 9. ist sie bereits in der Verdünnung $\frac{1}{200}$ unbeeinflußt.

Bei Coli 9 wird die Sedimentation der 7. Züchtung im Flexnerserum vom Titer 5000 und im Y-Serum vom gleichen Titer bis zur Verdünnung $\frac{1}{1000}$ deutlich beeinflußt, während das Paratyphusserum vom Titer 20000 bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$ wirkt. Die Agglutination ist im Flexnerserum bis zur Verdünnung $\frac{1}{1000}$ noch positiv, im Y-Serum bei $\frac{1}{1000}$ undeutlich, im Paratyphusserum bei $\frac{1}{1000}$ negativ, bei $\frac{1}{500}$ noch positiv. Vermutlich hätte die Agglutination im Flexnerserum noch weiter gereicht, wenn die fernereren Verdünnungen angesetzt worden wären. Im Normalserum trat eine schwächliche Beeinflussung der Sedimentation bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$, deutliche Agglutination bis ebendahin auf. Bei $\frac{1}{100}$ war hier die letztere schon undeutlich.

Tabelle XXXIII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer							
15. VII.	Coli 1a	y-Agar neu	VII	— ¹⁾	Psd.-Dys. Flexner	5 000	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
18. VII.	"	"	IX	—	"	"	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$

Tabelle XXXIV.

15. VII.	Coli 1a	y-Agar neu	VII	— ¹⁾	Pseudo-dysent. y	5 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$
----------	---------	------------	-----	-----------------	------------------	-------	---------------	---------------	---------------	---------------	-----------------	---------------	---------------

Tabelle XXXV.

15. VII.	Coli 1a	y-Agar neu	VII	— ¹⁾	Paratyphus B	20 000	$\frac{++}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$
18. VII.	"	"	IX	—	"	"	$\frac{++}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$

Tabelle XXXVI.

15. VII.	Coli 1a	y-Agar neu	VII	—	normal	—	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
17. VII.	"	"	IX	—	"	—	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$

Tabelle XXXVII.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	5 000	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	—	"	"	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$
17. VII.	"	"	IX	—	"	"	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{3}$

Tabelle XXXVIII.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Pseudo-dysent. y	5 000	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	—	"	"	$\frac{-}{4}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$

Tabelle XXXIX.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Paratyphus B	20 000	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	— ¹⁾	"	"	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{2}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{+}{2}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{2}$	$\frac{-}{1}$
17. VII.	"	"	IX	—	"	"	$\frac{+}{2}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$

Tabelle XL.

15. VII.	Coli 9	y-Agar neu	VII	—	normal	—	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$
17. VII.	"	"	IX	—	"	—	$\frac{+}{2}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$	$\frac{\cdot}{\cdot}$

1) NaCl $\frac{-}{1}$

Tabelle XLI.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		1/10	1/20	1/50	1/100	1/300	1/500	1/1000	1/2000
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	5 000	+	+	±	—	—	—	.	.
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	— ¹⁾	"	"	+	+	+	+	±	—	—	.
17. VII.	"	"	IX	—	"	"	+	+	+	+	±	—	—	.

Tabelle XLII.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Pseudo-dysent. y	5 000	+	±	—	—	—	—	.	.
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	—	"	"	+	+	±	±	—	—	—	.

Tabelle XLIII.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Paratyphus B	20 000	±	±	—	—	—	—	.	.
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	— ¹⁾	"	"	+	+	+	+	±	—	—	.
17. VII.	"	"	IX	—	"	"	+	+	+	+	—	—	—	.

Tabelle XLIV.

15. VII.	Coli 17	y-Agar neu	VII	—	normal	—	+	+	±	—
17. VII.	"	"	IX	—	"	—	+	+	+	±	—	—	.	.

Tabelle XLV.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	10 000	+	+	+	+	+	±	—	—
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	—	"	"	+	+	+	—	—	—	—	.
17. VII.	"	"	IX	—	"	"	+	+	+	+	—	—	—	.

Tabelle XLVI.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Pseudo-dysent. y	5 000	+	+	+	±	—	—	—	—
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	—	"	"	+	+	+	+	±	—	—	.

Tabelle XLVII.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Paratyphus B	20 000	+	+	+	±	—	—	—	—
15. VII.	"	y-Agar neu	VII	—	"	"	+	+	+	+	±	±	—	.
17. VII.	"	"	IX	—	"	"	+	+	+	+	±	±	—	.

Tabelle XLVIII.

15. VII.	Coli 20	y-Agar neu	VII	—	normal	—	±	—	—	—
17. VII.	"	"	IX	—	"	—	+	+	—	—	—	—	—	.

1) NaCl $\frac{1}{1}$

Die 9. Züchtung ergab im Flexner- und Paratyphus-, desgleichen im Normalserum ein auffallendes Zurückgehen der Erscheinungen, ebenso wie es beim vorhergehenden Versuch beobachtet war.

Bei Coli 17 wird die Sedimentation im Flexnerserum vom Titer 5000 bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$, im Y-Serum vom gleichen Titer bis zur Verdünnung von $\frac{1}{50}$, im Paratyphusserum vom Titer 20 000 bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$ beeinflußt. Beim Normalserum zeitigt die Verdünnung $\frac{1}{100}$ noch einige Krisseln. Die deutliche Agglutination reicht bei den genannten Sera bis zu den Verdünnungen $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{20}$. Die 9. Züchtung verhält sich in den 3 spezifischen Sera annähernd gleich der 7.

Bei Coli 20 ist ebenso wie beim vorhergehenden Versuch bei der 7. Züchtung keine deutliche Zunahme und bei der 9. keine Abnahme zu bemerken.

Ergebnis: Die im vorhergehenden Versuch gemachten Erfahrungen haben sich bestätigt.

Versuch P.

Um festzustellen, ob etwa bei den Durchgängen einzelne Kolonien die Paragglutination mehr als andere zeigen, wurde die 7. Züchtung des Coli 9 auf einer Platte mit Y-Nährboden angelegt und von dieser verschiedene Kolonien auf spezifischen Schrägagar verimpft (Tabelle XLIX). Diese Kolonien waren teils rund, teils zackig, als sie abgeimpft wurden. Drei von ihnen (rund a, rund b, zackig a) zeigten weder im Kaninchen-normalserum noch im Flexnerserum irgendeine Beeinflussung, im Typhusserum eine geringe Agglutination, während Stamm zackig b im Typhus- und im Flexnerserum Häutchenbildung bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$ und Agglutination bis zur Verdünnung $\frac{1}{1000}$ zeigte. Dieser Stamm zeigte im Kaninchennormalserum einen Schleierniederschlag bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$, Agglutination deutlich bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$, undeutlich bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$. In Kochsalzlösung zeigte er jedoch dieselbe Schleierbildung und ebenfalls undeutliche Agglutination, so daß das Ergebnis nicht als einwandfrei zu betrachten ist.

Tabelle LXIX.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$1/10$	$1/20$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/500$	$1/1000$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer							
16. VII.	Coli 9 rund a	y-Agar	VIII	— ¹⁾	Kaninch. normal	.	—	—	—	—	—	—	.
"	Coli 9 rund b	"	"	— ¹⁾	"	.	—	—	—	—	—	—	.
"	Coli 9 zackig a	"	"	— ¹⁾	"	.	—	—	—	—	—	—	.
"	Coli 9 zackig b	"	"	— ²⁾	"	.	+	+	+	+	±	±	.
"	Coli 9 rund a	"	"	—	Typhus	2000	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 9 rund b	"	"	—	"	"	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 9 zackig a	"	"	—	"	"	±	+	—	—	—	—	—
"	Coli 9 zackig b	"	"	—	"	"	+	±	+	+	+	+	+
"	Coli 9 rund a	"	"	—	Psd.-Dys. Flexner	5000	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 9 rund b	"	"	—	"	"	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 9 zackig a	"	"	—	"	"	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 9 zackig b	"	"	—	"	"	+	+	+	+	+	+	+

1) NaCl $\frac{—}{1}$ 2) NaCl $\frac{±}{6}$

Versuch Q.

Von der Schrägagarzüchtung 8 des Coli 1a auf Y-Agar wurde ein weiterer Plattendurchgang (9) angelegt und von diesem einzelne Kolonien ohne besondere Kennzeichen auf Schrägagarröhrchen weiterverimpft (Tabellen L—LIV).

Bei den Durchgängen 10 und 11 zeichneten sich die Stämme 1a (1) und 1a (4) vor den anderen aus, am meisten 1a (1). Von diesem wurden weiter die Züchtungen 12 und 13 angelegt. Von der letzteren wurden wiederum einzelne Kolonien, und zwar 7 Stück, ausgesucht und im Flexner- sowie Kaninchennormalserum geprüft. Auch bei diesen ergaben sich Unterschiede, wenn sie auch nicht sehr bedeutend waren. Auffallend ist bei diesem Versuch, daß die Agglutination im Kaninchennormalserum mehrfach undeutlich bis zur Verdün-

Tabelle L.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer							
19. VII.	Coli 1a (1)	y-Agar	X	— ¹⁾	Psd.-Dys. Flexner	5000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{\pm}{1}$	—	—	.
"	Coli 1a (2)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (3)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (4)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (5)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (6)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.

Tabelle LI.

20. VII.	Coli 1a (1)	y-Agar	XI	— ¹⁾	Kaninch. normal	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	—	.
"	Coli 1a (2)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (3)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (4)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (5)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (6)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+}{3}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
3. IX. 1915	Coli 1a *)	"	"	2	"	—	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	1

1) NaCl $\frac{-}{1}$

*) Einer der Stämme wurde im September 1915 noch erhalten vorgefunden. (Ph. Kuhn.)

Tabelle LII.

20. VII.	Coli 1a (1)	y-Agar	XI	—	Psd.-Dys. Flexner	5000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	—	—	.
"	Coli 1a (2)	"	"	—	"	"	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (3)	"	"	—	"	"	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (4)	"	"	—	"	"	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 5a (5)	"	"	—	"	"	$\frac{+}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli 1a (6)	"	"	—	"	"	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{2}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.

Tabelle LIII.

Durchgang IX auf Platte, X und XI auf Schrägagar. Den bestagglutinierenden Stamm 1a (1) wieder auf Platte XII, dann 7 einzelne Kolonien auf γ -Schrägagar XIII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
21. VII.	Coli 1a (1) (1)	γ -Agar	XIII	— ¹⁾	Psd.-Dys. Flexner	5000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (1) (2)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (1) (3)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (1) (4)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (1) (5)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (1) (6)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (1) (7)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	—	—	.	.

Tabelle LIV.

21. VII.	Coli 1a (1) (1)	γ -Agar	XIII	— ¹⁾	Kaninch. normal	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{\pm}{3}$.	.
"	Coli 1a (1) (2)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—	.	.
"	Coli 1a (1) (3)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{\pm}{4}$.	.
"	Coli 1a (1) (4)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$.	.
"	Coli 1a (1) (5)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	—	.	.
"	Coli 1a (1) (6)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—	.	.
"	Coli 1a (1) (7)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	—	.	.
3. IX. 1915	Coli 1a *)	"	"	2 ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{—}{3}$	$\frac{—}{2}$	$\frac{—}{1}$

1) NaCl $\frac{—}{1}$

*) Einer der Stämme wurde im September 1915 noch erhalten vorgefunden. (Ph. Kuhn.)

nung $\frac{1}{500}$, deutlich bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$ reichte, während sie im Flexner Serum weder deutlich noch undeutlich über die Verdünnung $\frac{1}{100}$ hinausging. Leider wurde weder Y-, noch Typhus- noch Paratyphus Serum angesetzt, die sonst dem Kaninchennormalserum stets überlegen waren.

Ergebnis: Die Verimpfung einzelner Kolonien von einer Platte mit Y-Nährboden ergibt, daß die Paragglutination sich bei den einzelnen Stämmen in ganz verschiedener Stärke einstellt.

Versuch R.

Mit dem Stamm 17 wurde ein gleicher Versuch ausgeführt. Die Züchtung 10 wurde auf einer Platte angelegt, von dieser wurden 5 einzelne Kolonien auf Schrägagar (11) gebracht. Bei der Sedimentation und Agglutination zeigten sich deutliche Unterschiede, am meisten war der Stamm 17 (3) beeinflusbar, im Flexnerserum schwach bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$, im Normalserum deutlich bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$ (Tabelle LV und LVI).

Ergebnis: Die im vorhergehenden Versuch gemachte Erfahrung wird bestätigt.

Tabelle LV.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer							
21. VII.	Coli 17 (1)	y-Agar	XI	— ¹⁾	Psd.-Dys. Flexner	5000	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	—	—	—	—
"	Coli 17 (2)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{2}$	—	—
"	Coli 17 (3)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—
"	Coli 17 (4)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{\pm}{3}$	—	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	—
"	Coli 17 (5)	"	"	— ¹⁾	"	"	$\frac{+(+)}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{2}$	—	—	—

Tabelle LVI.

21. VII.	Coli 17 (1)	y-Agar	XI	— ¹⁾	Kaninch. normal	—	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	—	—
"	Coli 17 (2)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{2}$	—	—
"	Coli 17 (3) ²⁾	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{3}$	—	—
"	Coli 17 (4)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	—	—
"	Coli 17 (5)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+(+)}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	—

1) NaCl $\frac{—}{1}$

Gesamtergebnis der Versuche M bis R.

Durch Züchtungen auf Y-Agar erhalten Coli-stämme, die von Hause aus keine oder keine erhebliche Beeinflussung zeigen, die Eigenschaft der Paragglutination. Bei Schrägagardurchgängen nimmt diese Erscheinung zu, bis sie nach Erreichung eines Höhepunktes wieder zurückgeht. Bei der Verimpfung einzelner Kolonien von Platten zeigen sich große Unterschiede. Die Paragglutination ist spezifisch, wenngleich sie auch im Kaninchennormalserum auftritt. Hier bleibt sie hinter den spezifischen Sera zurück. Die zugehörigen Sera haben meist die stärkere Einwirkung. Gleichwohl wirken Sera fernerstehender pathogener Arten ebenfalls, wie es auch bei den paragglutinierenden Stämmen von Kuhn, Gilde-meister und Woithe seinerzeit beobachtet war.

Versuche auf Flexneragar.**Versuch S (Tabellen LVII—LXVIII).**

Die Prüfung der 6. Züchtung des Flexneragars ergab beim Stamm 1a gegenüber dem 4. gewöhnlichen Agardurchgang im Flexnerserum nur eine ganz unbedeutende Krisselbildung bei den Verdünnungen $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{20}$, im Paratyphusserum in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ unbedeutende Krisselbildung und schwache Agglutination. Im Y-Serum zeigte sich keine Spur von Einfluß. Beim Coli 9 hatte derselbe Versuch kein besseres Ergebnis. Beim Coli 17 war ebenfalls nur eine geringe Beeinflussung erkennbar. Bei Coli 20 trat bei derselben Züchtung nur im Flexnerserum eine geringe Steigerung der von Hause aus vorhandenen Agglutination, im Y- und Paratyphusserum sogar ein leichtes Zurückgehen auf.

Ergebnis: Die 6. Züchtung auf Flexnerschrägagar erwies sich nur gering beeinflusst. Da in den Versuchen E, F, H, K eine viel stärkere Wirkung schon in den ersten Züchtungen auftrat, so ist der Gedanke berechtigt, daß möglicherweise die 6. Generation bereits einen Rückgang der Erscheinungen dargeboten hat.

Tabelle LVII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer						
4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	10 000	—	—	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	—	—	—	—	—	—

Tabelle LVIII.

4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	—	—	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	—	—	—	—	—	—

Tabelle LIX.

4. VI.	Coli 1a	Agar	—	4	Para- typhus B	20 000	—	—	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$

Tabelle LX.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	5 000	—	—	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	—	—	—	—	—	—

Tabelle LXI.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	—	—	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	—	—	—	—	—	—

Tabelle LXII.

4. VI.	Coli 9	Agar	—	4	Para- typhus B	20 000	—	—	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$

Tabelle LXIII.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	5 000	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$	—	—

Tabelle LXIV.

4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Pseudo- dysent. y	5 000	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexner- agar	VI	—	"	"	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{3}$	—	—	—	—

Tabelle LXV.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer								
4. VI.	Coli 17	Agar	—	4	Paratyphus B	20 000	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	—	—	.	.
8. VII.	"	Flexneragar	VI	—	"	"	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	.	.

Tabelle LXVI.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Psd.-Dys. Flexner	10 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	$\frac{+}{5}$	—	—	—
8. VII.	"	Flexneragar	VI	—	"	5 000	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	—	—	.	.

Tabelle LXVII.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Pseudodysent. y	5 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexneragar	VI	—	"	"	$\frac{++}{7}$	$\frac{++}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{+}{4}$	—	—	.	.

Tabelle LXVIII.

4. VI.	Coli 20	Agar	—	4	Paratyphus B	20 000	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{5}$	$\frac{\pm}{4}$	—	—	—	—
8. VII.	"	Flexneragar	VI	—	"	"	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	—	—	—	.	.

Versuch T (Tabelle LXIX—LXXII).

Die Verimpfung des Colistammes 1 a auf Paratyphusagar ergab in der 6. Züchtung am 27. VII. bei 5 von einer Platte gewonnenen Stämmen eine deutliche Agglutination bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$, im Kaninchennormalserum wies diese Verdünnung in einem Falle keine, bei den anderen 4 Stämmen undeutliche Agglutination auf. Ähnlich war am gleichen Tage das Ergebnis desselben Versuches beim Coli 17. Während von 5 Stämmen der 6. Züchtung im Normalserum in der Verdünnung $\frac{1}{50}$ 3 (2, 3, 4) undeutliche Agglutination hervorbrachten und 2 (1 und 5) außer schwacher Krisselbildung keinen Ausschlag gaben, ging die Beeinflussung im zugehörigen Serum in 2 Fällen (2 und 5) deutlich bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$, in 3 Fällen (1, 2, 5) undeutlich bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$. Bei dem Colistamm 20 wurde die 6. Züchtung auf Paratyphusagar am 27. VII. nur im Kaninchennormalserum geprüft, sie ergab

kaum eine Erhöhung der Beeinflußbarkeit gegenüber dem Verhalten des Stammes nach gewöhnlichen Agardurchgängen.

Tabelle LXIX.

Datum	Stamm	Nähr- boden	Züchtung		Serum		1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500
			spez.	unspez.	Stamm	Titer						
27. VII.	Coli 1 a (1)	Para- typhus B	VI	— ¹⁾	Kaninch. normal	—	+	+	±	—	—	.
	Coli 1 a (2)	"	"	— ¹⁾	"	—	+	±	—	—	1	.
	Coli 1 a (3)	"	"	— ¹⁾	"	—	+	+	±	—	1	.
	Coli 1 a (4)	"	"	— ¹⁾	"	—	+	+	±	2	1	.
	Coli 1 a (5)	"	"	— ¹⁾	"	—	+	+	±	—	1	.
	Coli 1 a (1)	"	"	—	Para- typhus B	20 000	+	+	+	—	—	.
	Coli 1 a (2)	"	"	—	"	—	+	+	+	—	1	.
	Coli 1 a (3)	"	"	—	"	—	+	+	+	—	1	.
	Coli 1 a (4)	"	"	—	"	—	+	+	+	—	1	.
	Coli 1 a (5)	"	"	—	"	—	+	+	+	—	1	.

1) NaCl $\frac{1}{1}$

Tabelle LXX.

27. VII.	Coli 17 (1)	Para- typhus B	VI	—	Kaninch. normal	—	+	+	—	—	—	.
"	Coli 17 (2)	"	"	—	"	—	+	+	±	—	—	.
"	Coli 17 (3)	"	"	—	"	—	+	+	±	—	—	.
"	Coli 17 (4)	"	"	—	"	—	+	+	±	—	—	.
"	Coli 17 (5)	"	"	—	"	—	+	+	±	—	—	.
"	Coli 17 (1)	"	"	—	Para- typhus B	20 000	+	+	+	±	±	.
"	Coli 17 (2)	"	"	—	"	"	+	+	+	±	±	.
"	Coli 17 (3)	"	"	—	"	"	+	+	±	—	—	.
"	Coli 17 (4)	"	"	—	"	"	+	+	+	±	—	.
"	Coli 17 (5)	"	"	—	"	"	+	+	+	±	±	.

Tabelle LXXI.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer						
27. VII.	Coli 20 (1)	Paratyphus B	VI	—	Kaninch. normal	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$
"	Coli 20 (2)	"	"	—	"	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$
"	Coli 20 (3)	"	"	—	"	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$
"	Coli 20 (4)	"	"	—	"	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{6}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$
"	Coli 20 (5)	"	"	—	"	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{5}$	$\frac{-}{4}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{3}$

Tabelle LXXII.

27. VII.	Coli a (1)	Paratyphus B	VI	— ¹⁾	Kaninch. normal	—	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (2)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (3)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (4)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (5)	"	"	— ¹⁾	"	—	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (1)	"	"	—	Paratyphus B	20 000	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (2)	"	"	—	"	"	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{2}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (3)	"	"	—	"	"	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{3}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (4)	"	"	—	"	"	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.
"	Coli a (5)	"	"	—	"	"	$\frac{+}{3}$	$\frac{+}{3}$	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{-}{1}$	$\frac{-}{1}$.

1) NaCl $\frac{-}{1}$

Der Versuch verlief also wie alle früheren Versuche mit diesem Stamm auf spezifischen Nährböden.

Der gleiche Versuch wurde noch mit dem aus dem Versuch F bekannten Coli a vorgenommen und ebenfalls am 27. VII. die 6. Züchtung geprüft. Im Kaninchennormalserum zeigte von 5 isolierten Stämmen nur einer (2) eine schwache Agglutination bis zur Verdünnung $\frac{1}{20}$, während im gleichnamigen Serum Verklebung bei allen 5 Stämmen teils bis

3*

zur Verdünnung $\frac{1}{20}$, teils bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$ nachzuweisen war.

Ergebnis: Auch die Versuche auf Paratyphusagar ergaben die verschiedene Beeinflußbarkeit der Stämme. Es wurde in der 6. Züchtung bei Coli 1a und 17 ein Ergebnis erzielt. Auch hier muß es dahingestellt bleiben, ob die geprüfte Züchtung vielleicht bereits hinter dem Höhepunkt der Erscheinung lag.

Versuche mit Typhusagar.

Versuch U (Tabellen LXXIII—LXXVI).

Coli 1a wurde auch auf Typhusagar fortgezüchtet und zunächst die 14. Züchtung geprüft. Sie ergab sowohl im Typhus- wie im Paratyphusserum Agglutination bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$, im ersteren deutliche, im letzteren undeutliche, während im Flexnerserum nur bis zur Verdünnung von $\frac{1}{100}$

Tabelle LXXIII.

Datum	Stamm	Nährböden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer							
9. VII.	Coli 1a	Typhusagar	XIV	—	Typhus	2 000	+	+	+	+	+	—	.
"	"	"	"	—	Paratyphus B	20 000	+	+	+	+	±	—	.
"	"	"	"	—	Psd.-Dys. Flexner	5 000	+	+	+	±	—	—	.
"	"	"	"	—	Pseudodysent. y	5 000	+	+	+	+	—	—	.

Tabelle LXXIV.

28. VII.	Coli 1a (1)	Typhusagar	XVIII	—	Typhus	10 000	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (2)	"	"	—	"	"	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (3)	"	"	—	"	"	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (4)	"	"	—	"	"	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (5)	"	"	—	"	"	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (6)	"	"	—	"	"	+	±	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (7)	"	"	—	"	"	+	±	—	—	—	—	—

Tabelle LXXV.

Stamm	Stamm	Nähr- böden	Züchtung		Serum		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer							
28. VII.	Coli 1a (1)	Typhus- agar	XVIII	—	Kaninch. normal	—	$\frac{\pm}{2}$	1	1	1	1	.	.
"	Coli 1a (2)	"	"	—	"	—	$\frac{\pm}{3}$	1	1	1	1	.	.
"	Coli 1a (3)	"	"	—	"	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{\pm}{3}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (4)	"	"	—	"	—	2	1	1	1	1	.	.
"	Coli 1a (5)	"	"	—	"	—	2	1	1	1	1	.	.
"	Coli 1a (6)	"	"	—	"	—	$\frac{+}{4}$	$\frac{+}{4}$	$\frac{\pm}{2}$	—	—	.	.
"	Coli 1a (7)	"	"	—	"	—	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{7}$	$\frac{+}{6}$	—	—	.	.

Tabelle LXXVI.

9. VII.	Coli 9	Typhus- agar	XIV	—	Typhus	2 000	1	1	1	1	1	1	.
"	"	"	"	—	Para- typhus B	20 000	$\frac{\pm}{2}$	$\frac{\pm}{2}$	1	1	1	1	.
"	"	"	"	—	Psd.-Dys. Flexner	5 000	1	1	1	1	1	1	.
"	"	"	"	— ¹⁾	Pseudo- dysent. y	5 000	1	1	1	1	1	1	.

1) NaCl $\frac{1}{1}$

undeutliche, im Y-Serum deutliche Agglutination eintrat. Bei der 18. Züchtung wurden 7 einzelne Stämme von einer Platte der 17. geprüft. Nur 3 Stämme, 1 a (3), (6), (7), erreichten eine Beeinflussung bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$ bzw. $\frac{1}{100}$ im Kaninchennormalserum, während die übrigen Stämme im selben Serum nur bis zur Verdünnung $\frac{1}{10}$ teils geringe Sedimentation, teils Agglutination zeigten. Im zugehörigen Serum vom Titer 10 000 zeigte sich am 28. VII. bei den Stämmen 1 a (3) und (7) undeutliche Agglutination bis zur Verdünnung $\frac{1}{100}$ bzw. $\frac{1}{200}$, deutliche bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$ bzw. $\frac{1}{100}$. Die übrigen 5 Stämme blieben hinter dieser Leistung zurück.

Vom Coli 9 wurde am 9. VII. die 14. Züchtung im Typhus-, Paratyphus-, Flexner- und Y-Serum geprüft. Nur im Paratyphusserum ergab sich bis zur Verdünnung $\frac{1}{20}$ eine undeutliche Beeinflussung.

Ergebnis: Die Prüfung hoher Züchtungen auf Typhusschrägagar (14 und 18) ergab eine Paragglutination, die weit hinter den Erwartungen zurückblieb. Es ist auch in diesem Versuch wahrscheinlich, daß der Höhepunkt bei früheren Durchgängen als den geprüften lag.

Versuche mit Kruseagar.

Versuch V (Tabelle LXXVII und LXXVIII).

Auf Kruseagar wurde nur Coli 1a gezüchtet. Die Prüfung der 5. Züchtung hatte insofern einen guten Erfolg, als von 6 Stämmen einer, 1a (6), im zugehörigen Serum vom Titer 1000 bis zur Verdünnung $1/500$ deutliche Agglutination zeigte,

Tabelle LXXVII.

Datum	Stamm	Nährboden	Züchtung		Serum		$1/10$	$1/30$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/500$
			spez.	unspez.	Stamm	Titer						
28. VII.	Coli 1a (1)	Kruseagar	V	— ¹⁾	Kruse	1000	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (2)	"	"	— ¹⁾	"	"	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (3)	"	"	— ¹⁾	"	"	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (4)	"	"	— ¹⁾	"	"	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (5)	"	"	— ¹⁾	"	"	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (6)	"	"	— ¹⁾	"	"	—	—	—	—	—	—

1) NaCl $\frac{1}{1}$

Tabelle LXXVIII.

28. VII.	Coli 1a (1)	Kruseagar	V	—	Kaninch. normal	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (2)	"	"	—	"	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (3)	"	"	—	"	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (4)	"	"	—	"	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (5)	"	"	—	"	—	—	—	—	—	—	—
"	Coli 1a (6)	"	"	—	"	—	—	—	—	—	—	—

während er im Kaninchennormalserum nur bis zur Verdünnung $\frac{1}{50}$ deutlich agglutiniert wurde. Die Beeinflussung im Kruseserum ging wahrscheinlich weiter bis zur Titergrenze, wurde aber nicht bis zu Ende festgestellt, weil nur die Verdünnungen bis $\frac{1}{500}$ angesetzt waren.

Ergebnis: Eine Züchtung auf Kruseagar ergab in der 5. Generation starke Agglutination.

Gesamtergebnis der Versuche L bis V.

Die nach einer spezifischen Züchtung beobachtete Paragglutination wurde bei der Weiterzüchtung des Stammes auf gewöhnlichem Agar bei der 2. Generation zunächst deutlicher, nahm aber von der 3. an ab.

Die Zunahme der Erscheinung in der Reihe der spezifischen Züchtungen erreicht auf Schrägagarröhrchen, die jeweils mit Brühekulturen verschiedener pathogener Bakterien hergestellt sind, einen Höhepunkt, um bei weiteren Generationen abzunehmen. Der Höhepunkt liegt meist bei der 5. Züchtung. Die Zunahme ist spezifisch, sie ist für Normal-Kaninchenserum viel geringer als für Immunsera.

Die Erscheinung tritt bei einzelnen Kolonien einer Plattenzüchtung stärker auf als bei anderen. Um also eine möglichst hohe Steigerung zu erreichen, empfiehlt sich die Anlage von Schrägagarröhrchen nicht, sondern die von Platten.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß es sich um dieselbe Erscheinung handelt, die Kuhn und Woithe zuerst bei den Stämmen aus dem Darm von Ruhrkranken feststellten und für die sie die spezifisch veränderten Körpersäfte verantwortlich machten.

Es sei gestattet, an der Hand dieser Ergebnisse auf die bisherigen Versuche der Erzielung von Paragglutination zurückzukommen, soweit sie aus der Literatur zu ersehen sind.

Danach ist die Beeinflussung der Verklebbarkeit bisher gelungen:

1) durch Einspritzung von Colibacillen in die Blutbahn von Kaninchen, die mit Flexnerbacillen immunisiert waren (Kuhn, Gildemeister und Woithe). Der Grad der Verklebbarkeit war gering. Der Rezeptorenapparat des verwandten *Bacterium coli* war sowohl für die Agglutinine eines Flexnerkaninchenserums wie für die eines Normalkaninchenserums empfindlich geworden.

2) durch Züchtung von Colibakterien in Extrakten oder bakterienfrei gemachten alten Brühekulturen von Flexnerbacillen (Keysser). Lentz gibt an, daß eine starke Paragglutinabilität der Stämme erzielt sei.

3) durch Zusammenleben von Begleitbakterien mit pathogenen Bakterien in Brühekulturen erzielte Busson in seinen Versuchen 3, 6, 9, 12, 13, 14, 15, und wir in den vorliegenden Versuchen A und B eine geringgradige Erhöhung der Agglutinierbarkeit.

Nach unseren Versuchen mit spezifischem Agar können wir uns des Gedankens nicht erwehren, daß bei anderer Versuchsanordnung der Erfolg mit Nährbrühe vielleicht größer sein könnte. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß die Zeit des Zusammenlebens in den flüssigen Kulturen Bussons eher zu lang als zu kurz war.

Ebenso wie bei den Züchtungen auf spezifischem Schrägagar auf Ueberschreiten des Höhepunktes eine Abnahme der Erscheinung erfolgte, die wir uns durch Ueberwuchern der unempfindlichen Keime erklären müssen, kann im flüssigen Mittel eine Ausschaltung der beeinflussbaren Einzelwesen stattfinden.

Es erscheint uns daher auch weniger verwunderlich, daß Bussons Versuche 16—28 überhaupt keine Steigerung der Agglutinabilität der Begleitbakterien durch isohomologe Kaninchenimmunsera erkennen ließen. Bei diesen Versuchen waren die Kulturen monatelang bei 37° C gehalten worden, während sie in den Versuchen 1—15 nur während eines Monats bei Brutschranktemperatur, dann aber bei Zimmertemperatur weitergezüchtet waren.

Es dürfte sich empfehlen, kurzfristige Züchtungen von Röhrchen zu Röhrchen mit sorgfältiger Auswahl der empfindlichen Keime nach jedesmaliger Plattenaussaat vorzunehmen.

4) durch Einsaat von Colibacillen oder Staphylokokken in Kulturen, die durch Pasteurisieren abgetötet waren, konnte Busson in 2 Fällen [No. 5 und 7¹⁾] eine schwache Agglutinierbarkeit erzielen. Die Ergebnisse scheinen uns geringer zu sein als bei den lebenden Kulturen.

Gegenüber diesen Versuchen gilt das Gleiche, was wir zu der vorhergehenden Gruppe ausführten.

5) durch unsere Züchtungen von Colibakterien auf spezifischem Agar.

Es ist nicht unmöglich, daß das Auftreten der Paragglutination hierbei „auf eine Resorption oder Adsorption präzipitabler oder agglutinabler Stoffwechselprodukte der Hauptbakterien zurückzuführen“ ist. Busson weist in Anlehnung an Beobachtungen Paltauf's auf diese Möglichkeit hin. Diese „agglutinablen Stoffwechselprodukte der Hauptbakterien“ müssen doch wohl die Rezeptoren für das Agglutinin der Immunsera sein.

Wir sehen aber keinen zwingenden Grund, von der ursprünglichen Ansicht abzugehen, die sich Kuhn und Woithe 1909 nach der Ehrlichschen Theorie bildeten, nach der den heterologen Mikroorganismen Rezeptoren für die Agglutinine des Serums angezüchtet wurden.

Für diese Auffassung und gegen die einfache Adsorption von Rezeptoren spricht unsere Beobachtung, daß bei den späteren Züchtungen auf Schrägagar nach Ueberschreitung des Höhepunktes eine stufenweise Abnahme der Agglutinabilität eintrat. Dieser Verlauf der Züchtungen spricht dafür, daß die einzelnen Keime sich unterschiedlich verhalten, indem ein Teil empfindlich, ein anderer unempfindlich ist. Der letztere bildet die Mehrzahl. Die empfindlichen Keime erreichen durch die Züchtungen auf spezifischem Agar die höchstmögliche Verklebbarkeit und bedingen zunächst das agglutinatorische Verhalten des Stammes, bis sich allmählich immer mehr von den unempfindlichen Keimen vermehren und die anderen verdrängen. Das deutet auf eine Mitarbeit der Bakterien hin, und es fällt schwer, sich vorzustellen, daß es Keime gibt, die einer einfachen mechanischen Resorption oder Adsorption fähig

1) Versuch 7 ergab übrigens nicht, wie Busson p. 343 seiner Arbeit sagt, eine komplette, sondern nur eine partielle Wirkung des Immunserums bis 100.

sind, und solche, die dazu unfähig sind. Man kann sich ferner ebensowenig vorstellen, daß eine einfache mechanische Adsorption nach Eintritt einer Sättigung der Mikroorganismen bei Züchtungen im gleichen Mittel wieder abnimmt.

Diese Abnahme der angezüchteten Agglutinabilität ist wohl ein Zeichen, daß die neue Eigenschaft noch nicht beständig ist, ebenso wie bei den aus dem Körper gezüchteten Stämmen.

Wir müssen aber hinsichtlich der letzteren dem Gedanken Raum geben, daß man ihre Verklebbarkeit vermutlich durch sorgfältige Auswahl der empfindlichen Keime von der Platte durch längere Zeit hindurch erhalten kann, als es Kuhn, Gildemeister und Woithe gelungen war.

Wir hoffen, daß unsere Beobachtungen für die weitere Erforschung der Paragglutination wie der Agglutination überhaupt neue Handhaben bieten.

Zusammenfassung.

Unsere Untersuchungen beweisen, daß Kuhn und Woithe recht hatten, die Paragglutination nicht als eine zufällige Erscheinung anzusehen, sondern sie gegenüber der Mitagglutination als etwas Besonderes herauszuheben.

Die Verimpfung von Colibakterien in Brühekulturen pathogener Stämme erzielte nur schwache Paragglutination.

Zur Erzeugung der Paragglutination erwies sich Nähragar geeignet, der mit der Brühekultur des pathogenen Stammes hergestellt ist.

Die erzeugte Paragglutination kann so stark sein, daß die Titergrenze für das zugehörige Serum erreicht wird.

Sie erstreckt sich auch auf die Sera anderer pathogener Stämme, ähnlich wie die Paragglutination der aus dem Menschenkörper gewonnenen Stämme nicht nur in den zugehörigen, sondern auch in ferner stehenden Sera auftritt.

Die nach einer spezifischen Züchtung beobachtete Paragglutination wurde bei der Weiterzüchtung des Stammes auf gewöhnlichem Agar bei der 2. Generation zunächst deutlicher, nahm aber von der 3. an ab.

Die Zunahme der Erscheinung in der Reihe der spezifischen Züchtungen erreicht auf Schrägagar einen Höhepunkt, um bei weiteren Generationen abzunehmen. Der Höhepunkt liegt meist bei der 5. Züchtung.

Die Zunahme ist spezifisch, sie ist für Normal-Kaninchen-serum viel geringer als für Immunsera.

Die Erscheinung tritt bei einzelnen Kolonien einer Plattenzüchtung stärker auf als bei anderen. Um also eine möglichst hohe Steigerung zu erreichen, empfiehlt sich die Anlage von Schrägagarröhrchen nicht, sondern die von Platten.

Auch für die Einsaat in Nährbrühekulturen pathogener Stämme dürfte es sich empfehlen, kurzfristige Züchtungen von Röhrchen zu Röhrchen mit sorgfältiger Auswahl der empfindlichen Keime nach jedesmaliger Plattenaussaat vorzunehmen.

Vermutlich kann man auch die Verklebbarkeit der aus dem Körper gezüchteten paragglutinierenden Stämme lange Zeit hindurch erhalten, wenn man von Generation zu Generation eine sorgfältige Auswahl der empfindlichen Keime von der Platte aus trifft.

Es ist nicht unmöglich, daß das Auftreten der Paragglutination hierbei „auf eine Resorption oder Adsorption präzipitabler oder agglutinabler Stoffwechselprodukte der Hauptbakterien zurückzuführen“ ist (Busson).

Es ist aber wahrscheinlicher, daß den heterologen Mikroorganismen Rezeptoren für die Agglutinine des Serums angezüchtet werden, wie es Kuhn und Woithe zur Erklärung der Paragglutination im Tierkörper nach der Ehrlichschen Theorie annahmen. (G. C.)

Literatur.

- Kuhn und Woithe, Med. Klinik, 1909, No. 45.
Kuhn, Gildemeister und Woithe, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 31, 1911, Heft 2, und Bd. 38, 1911, Heft 3.
Rimpau, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 38, 1911, Heft 3.
Ditthorn und Neumark, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 67, 1913.
Busson, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 57, 1911.
Gaethgens, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 12, 1912, Heft 6.
Ebeling, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 74, 1913.
Lentz, Handb. Kolle-Wassermann, Bd. 2.
Busson, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 73, 1914.

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen (Direktor:
Dr. med. Th. Madsen).]

Versuche über Komplement. II.

Die komplexe Konstitution des Meerschweinchenserums.

Von W. Leschly,
Assistent am Institute.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. August 1915.)

Die von Ferrata 1907 veröffentlichten Untersuchungen über den komplexen Bau des Komplementes sind die Einleitung einer neuen Aera der Komplementforschung gewesen und haben eine ganze Reihe weiterer Untersuchungen und theoretischer Betrachtungen hervorgerufen.

Ferrata¹⁾ wies nach, daß beim Dialysieren das Komplement (Meerschweinchenserum) nicht, wie früher [Büchner²⁾ u. a.] vermutet, destruiert, sondern eine Spaltung hervorgerufen wird, indem eine Mischung von dem beim Dialysieren entstandenen Sediment (in physiologischer Kochsalzlösung gelöst) mit der obenstehenden, durch NaCl isotonisch gemachten Flüssigkeit imstande ist, als Komplement zu wirken, während jede der beiden Fraktionen an und für sich unwirksam ist. Diese Ergebnisse sind von allen späteren Forschern bestätigt worden³⁾. Brand⁴⁾ hat gezeigt, daß die im Sediment enthaltene Funktion sich von sensibilisierten Blutkörperchen binden läßt, die im Abguß enthaltene dagegen nicht, weshalb er in Uebereinstimmung mit der Ehrlichschen Theorie die erste „Mittelstück“, die andere „Endstück“ genannt hat. Andere Forscher sprechen von Albuminteil (eigentlich Albumine + Pseudoglobuline) und Globulinteil (eigentlich Euglobuline) der Komplemente, welche Namen den Vorteil besitzen, daß sie keine theoretische Deutung präjudizieren. Gegen die von Brand gegebene Erklärung der Versuchsergebnisse haben sich mehrere Autoren ausgesprochen. Auf Grund zahlreicher Versuche, worin sie zeigen konnten, daß zwischen Bindung und Wirkung der Globulinfraktion ein Mißverhältnis bestehen kann, erklären Liefmann und Cohn⁵⁾ seine Theorie als unhaltbar. Verschiedene Verfasser vermuten, die sogenannte Spaltung sei keine wirkliche, das Komplement sei nur bei den verwendeten Prozessen

1) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) Arch. f. Hyg., Bd. 10, 1890, p. 149.

3) Eine Spaltung läßt sich auch mit CO₂ (Liefmann) und mit HCl (Sachs und Altmann) hervorrufen.

4) Berl. klin. Wochenschr., 1907, p. 1075.

5) Unter anderem Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, p. 609; Bd. 11, 1911, p. 166.

inaktiviert. Schmidt¹⁾ z. B. sagt: „Das Komplementkolloid ist mit größter Wahrscheinlichkeit ein einheitliches Eiweißkolloid und wird bei der Globulinfällung nur mitgerissen und physikalisch adsorbiert, nicht chemisch gespalten. — Es trifft also bei der Mischung von Globulinsediment und Albuminabguß nicht nur eine Befreiung des Komplementkolloids von der Globulinoberfläche, sondern gleichzeitig auch eine Summation der Komplementkolloidteilchen bis zur Schwellendosis der Wirksamkeit ein.“ Hier wäre also die „Spaltung“ eine Inaktivierung, bedingt durch die mittels der Behandlung hervorgerufene Globulinfällung. Nach Bronfenbrenner und Noguchi²⁾ handelt es sich bei der Komplementspaltung um eine Inaktivierung durch neu entstandene An- oder Kationen. Die Spaltung nach Sachs und Altmann³⁾ und bei der Dialyse sei eine Alkaliinaktivierung, die Spaltung nach Liefmann⁴⁾ eine Säureinaktivierung. Im Abgusse befinde sich das ganze Komplement und sei durch Säure resp. Alkali komplett oder wenigstens teilweise reaktivierungsfähig. Landsteiner und Roch⁵⁾, die insofern eine ähnliche Auffassung haben, als sie auch als Ursache der wahrgenommenen Erscheinungen Adsorptionsvorgänge annehmen, vermuten jedoch außerdem eine gewisse Wirkung der Globuline, indem diese bei gewissen Dispersitäten die Komplementwirkung bedingen resp. nur mehren sollen; sie verwiesen hier auf die bei anderen Reaktionen gefundene Globulinwirkung (Konglutination, Agglutination). Gegen Schmidt läßt sich einwenden, daß, wenn das Komplementkolloid nicht total von den Globulinen adsorbiert wird, sondern auch frei im Abgusse sich findet, es unverständlich ist, warum denn nicht der Abguß allein in entsprechend höheren Mengen Hämolyse erzeugt. Gegen die von Bronfenbrenner und Noguchi gegebene Erklärung spricht, daß es weder mir noch anderen gelungen ist, die Albuminfraktionen durch Säure oder Alkali zu reaktivieren. Dean⁶⁾ und Gengou⁷⁾ vermuten auch, daß bei der Spaltung Adsorptionsprozesse vor sich gehen, huldigen übrigens einer dualistischen Ansicht. Eine noch größere Komplexität nehmen Sachs und seine Mitarbeiter⁸⁾ an, welche eine dritte Komponente als einen notwendigen Faktor für die Komplementwirkung ansehen, dieser Faktor sei thermostabil [oder relativ thermostabil, Husler⁹⁾]. Browning und Mackie¹⁰⁾ äußern sich für die Wahrscheinlichkeit einer noch größeren Komplexität und nähern sich so den Anschauungen, die mehr oder weniger

1) Arch. f. Hyg., Bd. 76, 1912, p. 284.

2) Journ. of exper. Med., Vol. 15, p. 598 u. 625.

3) Kolle u. Wassermann, Handb., Erg.-Bd. 3, p. 450.

4) Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 41.

5) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 14, 1912, p. 14.

6) Journ. of Hyg., Vol. 12, 1912, p. 259.

7) Bull. Soc. Roy. d. Scienc. méd. et nat. de Bruxelles, 1911, p. 116.

8) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, p. 710; Bd. 13, p. 62; Bd. 15, p. 145; Bd. 10, p. 284, 1911—12.

9) Ebenda Bd. 15, 1912, p. 157.

10) Biochem. Zeitschr., Bd. 43, 1912, p. 229.

reserviert von Traube¹⁾, v. Liebermann und v. Fenyvessy²⁾ und von Morgenroth³⁾ hervorgehoben worden sind, und nach denen die Komplementwirkung von einem gewissen Gleichgewicht sämtlicher im Serum gelöster Stoffe + Lösungsmittel bedingt sei. Wie groß in der Tat der Einfluß des „Milieu“ (Traube) sein kann, geht aus einigen Versuchen von Cruikshank und Mackie⁴⁾ hervor, in denen ein Zusatz von Lecithin vor der Spaltung verursachte, daß die Albumine allein wie vollständiges Komplement wirken konnten, die Globuline aber die gewöhnliche Wirkung hatten. Der Zusatz von Lecithin steigerte die Wirkung ungespaltenen Serums nicht und war auch, den Fraktionen nach der Spaltung zugesetzt, ohne Einfluß.

Wie man sich denn auch die Wirkung der Spaltung denkt, jedenfalls ist es gewiß, daß man durch verschiedene Eingriffe das Komplement in zwei an sich unwirksame oder wenig wirksame Fraktionen zerlegen und durch eine Vereinigung beider das Komplement rekonstruieren kann. Außer der ursprünglichen Dialysemethode sind später mehrere andere angegeben worden, welche alle darein übereinstimmen, daß sie eine Globulin-fällung hervorrufen. Am meisten benutzt sind die Methoden von Liefermann (l. c.) und von Sachs und Altmann (l. c.). Nachdem meine Untersuchungen längst beendet, ist es neuerdings Browning und Mackie⁵⁾ gelungen, durch fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat das Komplement zu zerlegen. Komplementwirkung fand sich besonders in der Pseudoglobulinfraktion, sowohl des gesamten Serums als auch des Endstückes und des Mittelstückes, die Albumine hatten jedoch auch einen besonderen, fördernden Einfluß, der von der angewendeten Menge in hohem Maße abhängig war. Mir ist eine Fraktionierung mittels Ammonsulfats im Sinne einer Spaltung nie gelungen. Komplementwirkung wurde immer, sowohl von den Albuminen als von den Pseudoglobulinen, hervorgerufen, dagegen ließ sich die Euglobulinfraktion durchgehends gut als Mittelstück verwenden. Die hemmende Funktion, die sich in den gewöhnlicherweise erhaltenen Globulinen entwickeln kann, wurde nur in den Euglobulinen beobachtet und von den Pseudoglobulinen und Albuminen im entgegengesetzten Sinne beeinflusst [vgl. auch Friedemann⁶⁾]. In mittels Ammonsulfats ausgefällten Albuminen habe ich Endstückwirkung nie beobachten können. Während man nur mit diesen Methoden beide Funktionen in freiem Zustande gewinnt, gibt es etliche andere Methoden, um die Endstückfunktion allein zu erhalten, indem man das Mittelstück entfernt, unter anderem durch sensibilisierte Blutkörperchen, wobei das Mittelstück seine Wirkung, obwohl in gebundenem Zustande, behält; die Blutkörperchen

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 1911, p. 246.

2) Ebenda Bd. 10, 1911, p. 479.

3) Therapeut. Monatshefte, Februar 1912, p. 95.

4) Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912, p. 414.

5) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 21, 1914, p. 422.

6) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67, 1910, H. 2.

werden dabei „sensibilisiert“ [Skwirsky¹⁾], d. h. sie können vom Endstück allein gelöst werden. Persensibilisierung kann in sauren Flüssigkeiten [Michaëlis und Skwirsky²⁾], in der Kälte [Sachs und Bolkowska³⁾], in BaCl₂-, in CaCl₂- und in hypertonischen NaCl-Lösungen [v. Dungern und Hirschfeld⁴⁾] stattfinden, doch nur, wenn die Blutkörperchen stark sensibilisiert sind. Bei direkter Verdünnung des Hammelblutes mit Rohrzuckerlösung wird das Mittelstück auf die Blutkörperchen ausgefällt [Guggenheimer⁵⁾], eine eigentliche Bindung tritt aber erst ein, wenn Ambozeptor zugesetzt wird. Bei Komplementbindungsreaktionen, auch bei der Wassermannschen Reaktion, bleibt das Endstück mehr oder weniger unversehrt zurück, nur oder wesentlich nur das Mittelstück wird gebunden resp. inaktiviert [Skwirsky⁶⁾, Amako⁷⁾, Gengou⁸⁾]. Sensibilisierte Bakterien und spezifische Präparate [Gengou⁸⁾] wirken auf dieselbe Weise, dagegen entfernen unspezifische Niederschläge, wie Kaolin, Baryumsulfat u. a., beide Funktionen (Skwirsky, Amako, Gengou, l. c.), wenn auch das „Mittelstück“ leichter (Gengou, l. c.). Filtration durch Berkefeldkerzen wirkt auf ganz dieselbe Weise [Schmidt⁹⁾], eigene Versuche]. Das gebundene „Mittelstück“ kann in der Regel nicht wiedergewonnen werden, doch unter gewissen Bedingungen aus spezifischen Präzipitaten [Dean¹⁰⁾] und bei der Wassermannschen Reaktion (eigene Versuche).

Von den drei Methoden ist die Dialyse die am wenigsten gebrauchte, teils weil sie lange Zeit erfordert, teils weil die Resultate oft schlecht sind. Ueber die zwei anderen wird ein verschiedenes Urteil gefällt, einige ziehen die CO₂-Methode vor, andere die Salzsäuremethode. Persönlich habe ich die besten Resultate mit der ersten erreicht.

Technik. Das Serum wird mit einer den Umständen gemäß varierten Menge kalten destillierten Wassers verdünnt und dann in der Kälte CO₂ bis zu maximaler Trübung durchgeleitet (etwa 10 Minuten), dann wird vorsichtig zentrifugiert, die Flüssigkeit abpipettiert und durch Zusatz der berechneten Menge NaCl in Substanz oder als 18-proz. Lösung isotonisch gemacht. Das Sediment ist bisweilen mit destilliertem CO₂-haltigen Wasser gewaschen, am häufigsten sind nur die Wände der Zentrifugierröhrchen mit Baumwolle oder Filtrierpapier abgetrocknet, weil ich keinen Unterschied habe entdecken können. In den Versuchen ist die Albuminfraktion am meisten als „E“, die Globulinfraktion als „M“ bezeichnet, und die Zahlen geben an, wieviel ungespaltenem Serum sie entsprechen, 0,05 ccm „E“

- 1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 5, 1910, p. 538.
- 2) Ebenda Bd. 4, 1910, p. 357.
- 3) Ebenda Bd. 7, 1910, p. 778.
- 4) Ebenda Bd. 10, 1911, p. 131.
- 5) Ebenda Bd. 8, 1911, p. 294.
- 6) Ebenda Bd. 5, 1910, p. 538.
- 7) Fol. Serol., Bd. 7, 1911, p. 367.
- 8) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 1.
- 9) Arch. f. Hyg., Bd. 76, 1912, p. 284.
- 10) Journ. of Hyg., Vol. 12, 1912, p. 259

bedeutet z. B. „Endstück“ aus 0,05 ccm Serum usw., Serum $\frac{1}{10}$ verdünnt bedeutet, das Serum ist mit der 9-fachen Menge destillierten Wassers verdünnt, Serum $\frac{1}{5}$ verdünnt = Serum mit der 4-fachen Menge destillierten Wassers verdünnt usw. „M“ $\frac{1}{1}$ gelöst gibt an, daß das Sediment in einer dem ursprünglichen Serumvolumen entsprechenden Menge Kochsalzlösung gelöst ist, „M“ $\frac{1}{5}$ gelöst gibt an, daß für die Lösung des Globulinsedimentes die 5-fache Menge des Serumvolumens verwendet wurde. Längere Zeit oder stark zentrifugierte Sedimente lösen sich nur schwerlich.

Der Definition gemäß darf genau genommen weder Albumin noch Globulin allein Hämolyse hervorbringen, in der Praxis ist diese Forderung indessen nur mit größerer oder geringerer Annäherung befriedigt worden, indem häufig die eine oder die andere, wohl auch beide Fraktionen allein etwas Hämolyse hervorrufen können (Eigenhämolyse, wahrscheinlich auf einer unvollkommenen Spaltung beruhend). Von den mittels der CO_2 -Methode gewonnenen Fraktionen ist in der Regel nur der Albuminteil eigenhämolytisch, der Globulinteil selten und nur, wenn die Spaltung in $\frac{1}{10}$ oder größerer Verdünnung vorgenommen wurde. Möglicherweise kann freilich eine eventuelle eigenhämolytische Fähigkeit der in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ ausgefallten Globuline von einer daneben gebildeten Brandschen Modifikation verdeckt werden [vgl. später und Hecker¹⁾, der durch kurzdauernde Erwärmung die eigenhämolytische Fähigkeit aufhebt; hierdurch wird, wie später gezeigt wird, die Brandsche Modifikation gebildet]. Die eigenhämolytische Fähigkeit ist äußerst variierend an Stärke, hat sich aber immer nachweisen lassen können, wenn hinlänglich große Dosen, große Ambozeptormengen und nicht zu kurze Reaktionszeit gebraucht wurde. Wie aus verschiedenen veröffentlichten Versuchen hervorgeht, keiner aber hervorhebt, ist es für diese Hämolyse äußerst charakteristisch, daß sie langsam, oft sehr langsam eintritt. In Proben, die nach 2 Stunden bei 37° keine Hämolyse zeigen, findet sich öfters am nächsten Tage eine Hämolyse bis etwa 40—50, selten mehr; doch habe ich in einzelnen Fällen Totalhämolyse in solchen Fällen gesehen. In der Regel ist wohl, wie Brand (l. c.) gezeigt hat, die Eigenhämolyse mit der Ambozeptormenge aufsteigend, jedoch bei weitem nicht immer deutlich.

1) Arbeit. a. d. Kgl. Inst. f. exper. Ther. Frankfurt, 1907, p. 39.

Versuch 1. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut-aufschwemmung mit angegebenen Ambozeptormengen sensibilisiert. Meer-schweinchenserum in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO_2 gespalten.

E	nach 2 Std. bei 37° mit Ambozeptoreinheiten					nach 2 Std. bei 37° u. 20 Std. bei 0° mit Ambozeptoreinheiten				
	1	2	5	10	50	1	2	5	10	50
0.1	0	0	0	0	9	0	0	0	30	50
0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	12	30
0.025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nach Bronfenbrenner und Noguchi (l. c.) wäre die Spaltung nach der CO_2 -Methode eine Säureinaktivierung, in mehreren Versuchen ist es mir aber niemals gelungen, durch Zusatz von NaOH (andere Basen sind nicht untersucht worden) eine Reaktivierung des Komplementes herzustellen. Kleinere Mengen sind ohne Einfluß gewesen, die mit größeren Mengen beobachtete Hämolyse ist als Alkalihämolyse aufzufassen, weil ganz entsprechende Hämolyse in Kontrollröhrchen ohne Ambozeptor eingetreten ist. Die Globulinlösungen sind niemals ganz klar, sondern immer opalisierend oder auch flockig. Eben grobflockige Lösungen sind doch imstande, als „Mittelstück“ zu wirken, wahrscheinlicherweise, wie Schmidt (l. c.) vermutet, weil Globulin in Albumin besser als in Kochsalz-lösung löslich sind.

Die Rekonstruktion des Komplementes ist durchgehends gut gelungen, der Titer ist für das aus den Fraktionen zu-sammengesetzte Komplement gewöhnlich derselbe oder unge-fähr derselbe wie für das ungespaltene Komplement gewesen, bisweilen ist jedoch das „Endstück“ geschwächt worden, das „Mittelstück“ nur selten, abgesehen von den Fällen, in denen Brandsche Modifikation gebildet ist. Durchgehends wird behauptet, daß die Fraktionen einander ersetzen können, be-sonders sei „Mittelstück“ durch „Endstück“ leicht ersetzbar. Eine Vermehrung der Globulinmenge könne dagegen nicht oder doch nur in geringem Maße den Anspruch auf „End-stück“ herabmindern, so brauchen persensibilisierte Blut-körperchen für komplette Lösung ebensoviel Komplement wie einfach sensibilisierte (Skwirsky l. c., Gengou l. c.). In den veröffentlichten Versuchen ist jedoch die Verschiebung auch bei einer Vermehrung der Albumin oft sehr gering, in einigen

[Braun¹⁾] minimal. Nach meinen Versuchen gelten hier ganz entsprechende Verhältnisse wie zwischen Ambozeptor und Komplement, d. h. die für komplette Hämolyse eines gegebenen Blutquantums notwendige Menge „Endstück“ oder „Mittelstück“ ist von der verwendeten Menge der anderen Fraktion unabhängig oder nur ganz wenig abhängig, insofern diese andere Fraktion in einer Menge, die für Totalhämolyse hinreicht, vorhanden ist. Die von einer gewissen Menge der einen Fraktion (die kleiner als der Titer ist) hervorgerufene Hämolyse steigt, wenn die Menge der anderen Fraktion vermehrt wird, bis diese Menge die Titergröße erreicht, um dann stationär zu werden. Bisweilen, jedoch bei weitem nicht konstant, bedingt eine bestimmte Verminderung der „Endstück“-Menge eine größere Herabsetzung der Hämolyse als die proportionale Verminderung der „Mittelstück“-Menge.

Versuch 2. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,0008 ccm, Meer-schweinchenserum in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten; M $\frac{1}{2}$ gelöst.

Titer ungespaltenes Komplement 0,025 ccm
 aa E + M 0,025 „

M-Menge ccm	E										
	0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0,003	0,002	0,001
0,1	100	100	100	100	95	75	60	50	30	18	8
0,07	100	100	100	100	95	75	60	50	30	18	8
0,05	100	100	100	100	95	75	55	50	28	16	7
0,03	100	100	100	100	90	80	60	45	25	16	6
0,02	95	95	95	95	90	70	40	25	10	5	2
0,01	80	80	75	75	65	45	30	16	7	2	0
0,007	70	65	70	70	50	32	20	13	5	2	0
0,005	55	55	55	50	40	20	12	8	3	0	
0,003	35	35	30	30	22	10	5	3	2		
0,002	20	20	20	18	9	4	2	2	0		
0,001	12	13	12	11	4	2	0	0			

Kontrolle: 0,1 ccm $\left\{ \begin{array}{l} \text{E allein} \\ \text{M „} \end{array} \right\}$ Hämolyse 0.

In den einzelnen Versuchen finden sich kleinere Verschiedenheiten, eigenhämolytische Fraktionen geben z. B. ein etwas anderes Resultat, jedoch sind diese Abweichungen gewöhnlich nur unbedeutend. In einigen Fällen sind die Ab-

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, p. 65.

weichungen auch mit nicht-eigenhämolytischen Albuminfraktionen etwas größer gewesen; wie später erörtert wird, glaube ich, daß in diesen Fällen die Ursache in einem größeren Gehalt des Komplementes an hämolysefördernden („auxilytischen“) Funktionen zu suchen ist. Reihen, wie sie von Marks¹⁾ beschrieben, habe ich nur gesehen, wenn hemmende Funktionen in den Globulinen gebildet waren, sonst verursacht eine Vermehrung einer der Fraktionen eine Vermehrung der Hämolysengeschwindigkeit, und die Ambozeptormenge spielt keine nennenswerte Rolle.

Versuch 3. *Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit = 0,001 ccm Meerschweinchenserum in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten; M $\frac{1}{10}$ gelöst. E und M gleichzeitig zugesetzt²⁾.

E + M ää ccm	Ambozeptoreinheiten					
	1	2	5	10	20	50
0,02	100	100	100	100	100	100
0,016	100	100	100	100	100	100
0,013	100	100	100	100	100	100
0,01	90	90	90	90	90	90
0,008	75	75	75	75	80	75
0,006	60	60	65	65	60	60
0,005	40	40	40	40	40	40
0,004	30	30	35	35	30	30

So wie mehrere andere Autoren, z. B. Liefmann und Cohn³⁾, habe ich auch die günstigste Wirkung erreicht, wenn ich den Albuminteil gleichzeitig mit dem Globulinteile hinzusetzte, insofern eine Umbildung der Globuline nicht eingetreten war, der Unterschied ist am häufigsten nur gering gewesen. Bei der Beurteilung der Austitrierungsversuche muß man sich erinnern, daß ungespaltenes Serum nicht immer äquivalente Mengen von „Endstück“ und „Mittelstück“ enthält, obschon dies häufig im Meerschweinchenserum der Fall ist, und eine Auswertung von ungespaltenem oder aus gleichen Mengen beider Fraktionen rekonstruierten Komplemente daher nur eine Titrierung desjenigen Faktors ist, der sich in kleinster Menge vorfindet.

- 1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig., Bd. 8, 1911, H. 4.
- 2) Mehrere Versuche mit gleichem Ergebnis.
- 3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, p. 669.

4*

Hemmende Funktionen in den Globulinen (Brandsche Modifikation).

Die Verhältnisse stellen sich bei Untersuchungen von Komplementfraktionen viel verwickelter dar, wenn in den ausgefallten Globulinen sich hemmende Stoffe (Funktionen) ausgebildet haben.

Brand hat wahrgenommen, daß eine Globulinfraction beim Stehen in physiologischer Kochsalzlösung derart umgebildet wurde, daß Zusatz von „Endstück“ gleichzeitig mit dem „Mittelstück“ keine Hämolyse hervorrief, wohl aber, wenn die sensibilisierten Blutkörperchen einige Zeit ($\frac{1}{2}$ —1 Stunde) mit dem „Mittelstück“ gestanden. Er zeigte ferner, daß diese Umbildung nicht stattfand, wenn die Globulinfraction ungelöst in destilliertem Wasser aufbewahrt wurde. Spätere Untersuchungen haben diese Angaben völlig bestätigt, aber die Erscheinung mit sehr verschiedener Häufigkeit gefunden. Aus den Darstellungen Brands (l. c.) und Heckers (l. c.) erhält man den Eindruck, daß die Umbildung sich immer ergibt, wenn die Globuline wenige Stunden gelöst stehen. Liefmann und Cohn (l. c.) äußern, daß sie in den meisten Fällen die Wahrnehmungen Brands bestätigen können, Marks (l. c.) untersuchte 20 Meerschweinchen-sera und fand das Globulin immer umgebildet und unwirksam nach einem 24-stündigen Stehen in Kochsalzlösung. Da sich geringere Hämolyse immer ergab, wenn das Verhältnis $\frac{M}{E} - 1$ überstieg, vermutete er ferner, daß auch frische Globulinfractionen eine hemmende Wirkung ausüben. Fränkel¹⁾ äußert, daß Globulinfractionen sich oft bis 48 Stunden in Kochsalzlösung wirksam erhalten, auf der anderen Seite waren ganz frische Globulinlösungen hemmend. Braun (l. c.) fand die Brandsche Modifikation weit häufiger in Lösungen von Globulinen, welche durch Dialyse gewonnen waren, als in Lösungen von nach Liefmann gefällten Globulinen. Hecker (l. c.) wies nach, daß umgebildete Globuline auch auf die Hämolyse mit ungespaltenem Komplement hemmend wirken. Thomsen und Leschly²⁾ untersuchten näher die Bedingungen für die Bildung der Brandschen Modifikation in Globulinen, die mit der CO₂-Methode gewonnen wurden. Wir fanden, daß die Tendenz der Globuline, umgebildet zu werden, in erster Linie davon abhängig ist, wie stark das Serum verdünnt wird. Ist das Serum nur 5-fach verdünnt, so werden die Globuline leicht umgebildet; sind die Globuline dagegen aus 10- oder 20-fach verdünntem Serum niedergeschlagen, so bilden sie schwerlich oder nicht hemmende Funktionen. Diese Abhängigkeit von der Verdünnung wird durch die herabgesetzte Salzkonzentration bedingt. Die Schnelligkeit, mit welcher die Brandsche Modifikation gebildet wird, ist in zweiter Linie von der Konzentration und der Temperatur der Globulinlösung abhängig;

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, 1911, p. 781.

2) Ebenda, Bd. 11, 1911, p. 216.

so steigert sich die Umbildungsgeschwindigkeit mit wachsender Konzentration und Temperatur. Die Albumine vermochten der Umbildung entgegenzuwirken, wenn sie in hinreichender Menge vorhanden waren und auf die Globuline einwirken könnten.

Dieselbe Beobachtung bezüglich des Einflusses der Temperatur haben auch Liefmann und Cohn (l. c.) gemacht. Bei 37° trat die Umbildung in 1 Minute ein, bei 26° erst nach mehr als 1/2 Stunde. Ebenso wie Fränkel (l. c.) sahen auch Thomsen und ich, daß Globulinlösungen in einigen Fällen nach dem Zentrifugieren und Lösen gleich hemmende Eigenschaften darboten, doch nie, wenn die Globuline aus Serum gewonnen wurden, das 10-fach oder mehr mit destilliertem Wasser verdünnt war. In anderen Versuchen konnten wir auch dann und wann die von Friedemann (l. c.) durch Studien über Menschenglobuline aufgefundene antagonistische Wirkung der Albumine demonstrieren. Friedemann fand, daß die hemmende Wirkung der Euglobuline stärker sei, als die der gesamten Globuline, und daß die Albuminfraktion (Albumine + Pseudoglobuline) ein antagonistisches Vermögen gegenüber der Globulinhemmung besitze, doch nur insofern Globuline und Albumine in konzentrierter Lösung gemischt wären. Für die Spaltung verwendete er in der Regel ein Drittel Sättigung mit Ammonsulfat. Schmidt¹⁾ vermutet, dieses antagonistische Vermögen der Albumine sei ihrer Fähigkeit, die Dispersität der Globuline zu steigern und als Schutzkolloid zu wirken, zu verdanken.

Ueber die Natur der Brandschen Modifikation hat wenig Uebereinstimmung geherrscht. Brand und Hecker faßten sie als eine Funktion des „Mittelstückes“ selbst auf, indem sie vermuteten, dieses erleide in Kochsalzlösung eine Veränderung. Dieser Ansicht sind die meisten Verff. mehr oder weniger ausgesprochen beigetreten. Friedemann (l. c.), Thomsen und ich (l. c.) haben dagegen aus verschiedenen Gründen die entgegengesetzte Ansicht behauptet, die „Mittelstück“-Funktion an sich verändere sich nicht, die Wirkung sei nur durch neugebildete hemmende Funktionen verdeckt — eine Ansicht, welche Hecker ablehnen zu können gemeint hatte aus der Motivierung, das „Endstück“ stelle auch Hämolyse her, wenn die Flüssigkeit nicht entfernt werde, nachdem das „Mittelstück“ an die Blutkörperchen gebunden ist. Friedemann und Rozenblatt²⁾ vermuten, eine Dissoziation von Seifen sei die Ursache der Brandschen Modifikation, Schmidt (l. c.) nimmt an, durch Stehen werde die Dispersität verringert und dadurch mehr Komplement gebunden, Dean³⁾ ist der Meinung, bei Temperaturen über 0° erfolge eine irreversible Bindung des Komplementes.

Was die damals von Thomsen und mir hervorgehobenen Verhältnisse betrifft, so kann ich nur bemerken, daß ich unsere früheren Beobachtungen durch spätere Versuche bestätigt

1) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 1911, p. 513.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 14, 1912, p. 42.

3) Journ. of Hyg., Vol. 12, 1912, p. 259.

habe, doch habe ich ab und zu, jedoch selten, Globuline erhalten, welche, obgleich in 10-fach verdünntem Serum gefällt, doch gleich nach der Auflösung Brandsche Modifikation enthielten.

Unter anderen Aufbewahrungsmethoden, als die damals erwähnten, habe ich die Wirkung von NaCl-Lösungen verschiedener Konzentration geprüft.

Versuch 4. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,013 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst, in zwei Portionen geteilt: 1) 1 ccm mit 9 ccm destilliertes Wasser, 2) 1 ccm mit 9 ccm 0,9-proz. Kochsalzlösung verdünnt. Beide Lösungen stehen 3 Stunden im Wasserbade bei 37° , dann wird mit 1) NaCl isotonisch gemacht und beide mit 0,02 ccm E geprüft. M-Titer sofort geprüft = 0,013.

M-Menge ccm	E gleich zugesetzt		E $\frac{1}{2}$ Std. nach M	
	M 1	M 2	M 1	M 2
0,1	0	0	100	100
0,07	20	0	"	"
0,05	40	0	"	"
0,03	70	0	"	"
0,02	70	0	"	90
0,01	50	0	80	60

Wie auch Guggenheimer¹⁾ gefunden, habe ich beobachtet, daß die Umbildung durch Herabsetzung der Salzkonzentration bis an 0,1 Proz. nicht verhindert wird, obwohl die Umbildung in verdünnten Salzlösungen weniger schnell als in 0,9 Proz. erfolgt (Versuch 4). In höheren Konzentrationen von NaCl findet die Umbildung nur langsam oder nicht merkbar statt. In 10-proz. NaCl-Lösungen habe ich in zahlreichen Versuchen nie Andeutung der Brandschen Modifikation gesehen, in 5-proz. Lösungen ein einziges Mal eine geringe Umbildung, der M-Titer hält sich daher am meisten beinahe unverändert in den konzentrierten Salzlösungen (Versuch 5).

Versuch 5. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit = 0,0025 ccm. Frisches Meerschweinchenserum (Titer = 0,02 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO_2 gespalten. Titer gleich $\bar{a}\bar{a}$ M und E 0,02 ccm. M $\frac{1}{1}$ gelöst 1) in 0,9-proz., 2) in 5-proz., 3) in 10-proz. NaCl-Lösung; bei 37°

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 393.

hingestellt, nach 2, 4 und 5 Stunden Proben entgenommen, auf $\frac{1}{10}$ mit
1) 0,9-proz., 2) 0,45-proz. NaCl-Lösung, 3) destilliertem Wasser verdünnt.

nach 24 Std.

Kontrolle:	0,1 ccm E allein	10
	0,07 " " "	6
	0,05 " " "	4
	0,1 " M "	0

M-Menge ccm	Hämolyse									
	nach 2 Std.			nach 4 Std.			nach 5 Std.			
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃	
0.05	6	100	100	6	100	100	0	100	100	0,025 E sofort
0.03	10		"	0		"	6		"	
0.02	"	95	"	6	90	"	10	80	"	
0.01	"	80	85	6	60	90	"	50	80	
0.05	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0,025 E 1 Std. n. M
0.03	90	"	"	90	"	"	90	"	"	
0.02	70	"	90	70	90	"	60	90	"	
0.01	40	80	70	40	70	90	30	40	80	

Die Dispersität der Globuline ist auch bedeutend größer in den konzentrierten Salzlösungen als in den gewöhnlichen, wie sowohl mit bloßem Auge ersichtlich, indem sie weit heller sind, als auch daraus hervorgeht, daß die Mittelstückfunktion in weit größerem Umfange (Versuch 6) durch Berkefeldkerzen geht; vgl. auch Schmidt (l. c.).

Versuch 6. Frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,01 ccm), $\frac{1}{10}$ verdünnt, mit CO₂ gespalten, M $\frac{1}{2}$ gelöst. Titer aa E + M, sofort = 0,01 ccm. M wird in zwei Portionen geteilt, Lösung 1 wird NaCl bis zu einem Gehalt von 5 Proz. zugesetzt. Beide Lösungen werden durch Berkefeldkerzen filtriert und die Filtrate auf M-Wirkung geprüft, in Volumen 1,25 ccm mit 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,02 ccm E $\frac{1}{2}$ Stunde nach M zugesetzt. Die Lösung 1 wird erst 5mal mit destilliertem Wasser verdünnt.

M-Menge	M ₁	M ₂	M-Menge	M ₁	M ₂
0,3 ccm	100	0	0,05 ccm	100	0
0,2 "	"	0	0,03 "	"	0
0,1 "	"	0	0,02 "	90	0
0,07 "	"	0	0,01 "	60	0

Diese Resultate haben ein besonderes Interesse, weil Friedberger¹⁾ ausfindig gemacht hat, daß eine Erhöhung

1) Berlin. klin. Wochenschr., Bd. I, 41, 1907; Centralbl. f. Bakt. Orig., Bd. 46, 1908, p. 441.

der Salzkonzentration die Komplementfunktion konserviert, und Muttermilch¹⁾ sowie auch Liefmann und Cohn²⁾ angeben, daß beim Lagern besonders das „Mittelstück“ destruiert wird, eventuell nur außer Funktion gesetzt wird; nach Friedemann (l. c.) weil Brandsche Modifikation gebildet wird. Wenn dies auch teilweise richtig sein mag, was mit diesen Versuchen gut übereinstimmen würde, so sind die Verhältnisse jedoch komplizierter, weil außer dieser Inaktivierung auch eine eigentliche Destruktion stattfindet.

Ebenso wie die Salzkonzentration habe ich gefunden, daß die H^+ -Ionenkonzentration auf die Geschwindigkeit, womit hemmende Funktionen in Globulinlösungen entstehen, von großem Einfluß ist. Um Veränderungen der Reaktion herzustellen habe ich teils Phosphatmischungen, teils NaOH und HCl benutzt. Da allmählich und in der Regel am schnellsten in alkalischen Lösungen eine Destruktion des „Mittelstückes“ entsteht, können sich die Versuche nicht längere Zeit hindurch erstrecken, wenn man auch verhindert, stark saure und alkalische Mischungen zu verwenden. Wenn Phosphatlösungen verwendet sind, habe ich angenommen, die Lösungen haben dieselbe Reaktion wie die Phosphatmischungen, was gewiß nur annähernd richtig ist, in den Versuchen mit Salzsäure und Natriumhydroxyd ist pH elektrometrisch gemessen. Als Beispiele mögen die folgenden Versuche No. 7 und 8 dienen.

Versuch 7. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptortiter 0,0005 ccm. $n/6_{18}$ -Lösungen von primärem Kaliumphosphat und sekundärem Natriumphosphat (Kahlbaum, Zu Enzymstudien nach Sörensen). Frisches Meerschweinchen-serum in der Verdünnung $1/8$ mit CO_2 gespalten, $M 1/2$ gelöst in

- | | | | | | | | | |
|----|-----------------|-----------|---|-----|---------|------|-----|-----|
| a) | 9,5 | sekundär. | + | 0,5 | primär. | pH | ca. | 7,9 |
| b) | 8 | „ | + | 2 | „ | „ | „ | 7,4 |
| c) | 6 | „ | + | 4 | „ | „ | „ | 7,0 |
| d) | 4 | „ | + | 6 | „ | „ | „ | 6,6 |
| e) | 2 | „ | + | 8 | „ | „ | „ | 6,3 |
| f) | 0,5 | „ | + | 9,5 | „ | „ | „ | 5,6 |
| g) | 0,9-proz. NaCl. | | | | | | | |

Alle Lösungen werden bei 37° aufbewahrt. Zu den angegebenen Zeiten werden Proben entnommen, mit einer entsprechenden Menge der

1) Compt. rend. Soc. Biol., T. 71, 1911, No. 35.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 166.

umgekehrt zusammengesetzten Phosphatmischung neutralisiert. Allen Gläsern wird so viel Phosphatmischung $\frac{\text{primär}}{\text{sekundär}} = \frac{1}{1}$ zugesetzt, daß in allem 0,3 ccm in jedem Glase enthalten ist.

M- Menge ccm	0,03 ccm E gleich zuges.							0,03 ccm E $\frac{1}{2}$ St. n. M							nach
	M-Lösung							M-Lösung							
	a	b	c	d	e	f	g	a	b	c	d	e	f	g	
0,05	100	100	100	100	100	100	.	100	100	100	100	100	100	.	} $\frac{3}{4}$ Stunde
0,04	"	"	"	"	"	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,03	"	"	90	90	"	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,025	"	"	"	80	90	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,02	"	"	80	60	80	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,015	"	"	70	50	60	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,05	100	100	0	20	100	100	.	100	100	100	100	100	100	.	} $1\frac{1}{2}$ Stunde
0,04	"	"	20	60	"	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,03	"	"	40	100	90	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,025	"	90	80	90	70	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,02	"	80	20	70	60	90	.	90	"	"	90	"	"	.	
0,015	80	50	10	50	40	70	.	80	90	90	80	90	80	.	
0,05	100	0	0	0	0	100	.	100	100	100	100	100	100	.	} 2 Stunden
0,04	"	0	0	0	0	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,03	"	0	0	0	0	"	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,025	"	0	0	0	0	90	.	"	"	"	"	"	"	.	
0,02	90	0	0	0	0	80	.	90	95	90	"	90	70	.	
0,015	70	0	0	0	0	50	.	65	80	80	80	60	40	.	
0,07	40	0	0	0	0	45	0	100	100	100	100	100	100	100	} $2\frac{3}{4}$ Stunden
0,05	45	0	0	0	0	60	0	"	"	"	"	"	"	"	
0,04	40	0	0	0	0	100	0	90	"	"	"	"	"	"	
0,03	"	0	0	0	0	80	10	"	"	"	"	"	"	"	
0,025	35	0	0	0	0	45	10	80	"	"	"	"	90	"	
0,02	30	0	0	0	0	40	12	"	90	90	90	90	80	90	

Versuch 8. Volumen 1,25 ccm. 0,5 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. 20 ccm Meerschweinchenserum in der Verdünnung $\frac{1}{2}$ mit CO_2 gespalten. M zweimal mit CO_2 -freiem destillierten Wasser gewaschen, $\frac{1}{1}$ in CO_2 -freier Kochsalzlösung gelöst, dann auf $\frac{1}{2}$ mit CO_2 -freier Kochsalzlösung und angegebenen Mengen von $n_{/100}$ HCl und NaOH verdünnt, bei 37° hingestellt in verkorkten Röhrchen. Nach 1 und nach 3 Stunden Proben entnommen, neutralisiert und mit 0,03 ccm E, das keine Eigenhämolyse ergibt, geprüft. pH elektrometrisch gemessen.

a) 0,1	$n_{/100}$ HCl;	$\text{pH} = 6,31$	f) 0,1	$n_{/100}$ NaOH;	$\text{pH} = 7,42$
b) 0,05	" "	" = 6,61	g) 0,15	" "	" = 7,70
c) 0,02	" "	" = 6,84	h) 0,2	" "	" = 8,02
d) 0	" "	" = 6,97	i) 0,25	" "	" =
e) 0,05	" NaOH;	" = 7,13			

M- Menge ccm	0,03 ccm E gleich zugesetzt und M-Lösung									nach
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	
0,1	100	100	90	70	40	10	20	90	100	1 Stunde
0,07	"	"	100	90	60	12	30	100	"	
0,05	"	"	"	100	90	20	70	"	"	
0,03	"	"	"	"	80	40	80	"	"	
0,02	"	"	90	80	60	20	50	80	"	
0,01	90	90	70	60	40	12	20	70	90	
0,1	100	70	0	0	0	0	0	0	40	3 Stunden
0,07	"	90	10	0	0	0	0	0	90	
0,05	"	100	30	6	0	0	0	10	100	
0,03	"	90	45	10	6	0	0	12	80	
0,02	90	70	45	12	10	0	6	10	70	
0,01	80	60	25	10	12	0	10	10	60	

Zusatz von E 1 Stunde nach M zeigte, daß es sich in der Tat um eine Brandsche Modifikation handelte¹⁾.

Versuche mit Phosphatlösungen sind mehrmals ausgeführt, und die Umbildung ist in den Lösungen, welche gleiche Mengen primäres und sekundäres Salz enthielten, am stärksten gewesen, nur einmal am stärksten in der Lösung mit 8 sekundärem und 2 primärem Salz, d. h. bei einer p_H etwa 7—7,4. In den Versuchen mit Salzsäure und Natronhydrat ist die Umbildung am stärksten gewesen in den Lösungen, die mit 0,1—0,2 n_{100} NaOH eine p_H etwa 7,5 hatten. Guggenheimer (l. c.) hat übrigens bei Untersuchungen über die destruierende Wirkung von HCl und NaOH auf die Komplementfraktionen ausfindig gemacht, daß gewisse Konzentrationen der Bildung der Brandschen Modifikation entgegenwirken.

Ebenso wie die bisher erwähnten Faktoren spielt auch die Temperatur eine große Rolle bei der Geschwindigkeit, womit sich in einer Globulinlösung hemmende Funktionen bilden. Die Umbildung mag, wie es mehrere Verfasser, z. B. Friedemann (l. c.) mitteilen und wie ich es auch mehrmals beobachtet habe, sehr wohl entstehen, wenn die Globulinlösungen bei 0—2° aufbewahrt werden, bei $\pm 16^\circ$ dagegen habe ich eine Umbildung nie wahrgenommen. Bei höheren Temperaturen geschieht die Umbildung weit schneller. Sowohl Thomsen und ich (l. c.) als auch Liefmann und Cohn (l. c.) fanden die Umbildungsgeschwindigkeit weit größer bei 37° als bei

1) 4 Versuche mit gleichem Resultate.

etwa 18–26°, noch schneller indessen verläuft der Prozeß bei Temperaturen über 37° (Versuch 9). Vgl. Amako¹⁾.

Versuch 9. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Meerschweinchenserum $\frac{1}{8}$ verdünnt, gespalten, M $\frac{1}{10}$ gelöst, in 4 Portionen geteilt und bei 1) ca. 16°, 2) 37°, 3) 42°, 4) 56° hingestellt. 0,02 ccm E sofort zugesetzt.

M-Menge ccm	M-Lösung aufbewahrt bei											
	16°					37°			42°			56°
	0'	2 St.	4 St.	6 St.	24 St.	$\frac{1}{2}$ St.	1 St.	2 St.	10'	20'	30'	5'
0,1	100	100	100	20	0	60	0	0	40	0	0	0
0,07	"	"	"	60	0	80	0	0	80	0	0	0
0,05	"	"	"	70	0	90	30	0	90	25	0	0
0,03	"	"	"	90	10	100	50	0	70	6	0	0
0,02	"	"	90	80	12	100	70	0	60	0	0	0
0,01	70	90	70	70	20	80	40	0	20	0	0	0

Aus Kontrollversuchen mit späterem Zusatz von E erhellte, daß es sich nicht um eine Destruktion, sondern um eine Entwicklung hemmender Funktionen handelte.

Das größte Interesse hat hier der Verlauf bei 56°, der gewöhnlichen Inaktivierungstemperatur. Die Angaben über die Thermoresistenz des „Mittelstückes“ lauten höchst verschieden. Einige Autoren erklären, das „Mittelstück“ sei weit thermoresistenter als das „Endstück“, während andere behaupten, das „Mittelstück“ sei noch mehr thermolabil. Die Ursache der widersprechenden Angaben liegt gewiß darin, daß für die Untersuchung verschiedene Arten Globuline verwendet sind. Wie bei niedrigeren Temperaturen, ergeben sich auch bei 56° große Unterschiede zwischen Globulinen, welche in stark, und solchen, die in schwach verdünntem Serum gefällt sind.

In allen Fällen, in denen eine Globulinfraktion nach kurzem Erwärmen auf 56° sich bei gewöhnlicher Versuchstechnik unwirksam gezeigt hat, habe ich immer ausfindig gemacht, daß nicht, wie vermutet, eine eigentliche „Inaktivierung“ daran schuld war, daß vielmehr hemmende Funktionen gebildet waren. Wird das „Endstück“ dagegen nicht mit dem „Mittelstück“ gleichzeitig,

1) Zeitschr. f. Chemoth., Bd. 1, 1912, p. 224.

sondern einige Zeit nachher zugesetzt, so zeigen sich die anscheinend inaktiven Globuline sehr wohl imstande, Hämolyse hervorzurufen — es handelt sich also um hemmende Funktionen, welche der Brandschen Modifikation in jeder Beziehung entsprechen.

Versuch 10. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,002 ccm. Frisches Meerschweinchenserum in der Verdünnung $\frac{1}{6}$ und $\frac{1}{10}$ mit CO_2 gespalten. Beide Globuline $\frac{1}{1}$ gelöst, sogleich untersucht und dann auf 56° erwärmt. Ueberall 0,02 ccm E (von dem in Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespaltenen Serum), das keine Hämolyse allein erzeugt. Titer gleich E + M $\bar{\alpha}\alpha$ mit beiden Globulinen = 0,01 ccm. Hemmende Wirkung mit 0,01 ccm ungespaltenem Serum und $2\frac{1}{2}$ Ambozeptoreinheiten untersucht. Keine Bindung.

I. Hämolyse.

M-Menge ccm	M in der Verd. $\frac{1}{6}$ gefällt								M in der Verd. $\frac{1}{10}$ gefällt							
	E sofort M erhitzt				E $\frac{1}{2}$ Std. n. M M erhitzt				E sofort M erhitzt				E $\frac{1}{2}$ Std. n. M M erhitzt			
	0'	5'	10'	20'	0'	5'	10'	20'	0'	5'	10'	20'	0'	5'	10'	20'
0,7	100	0	0	0	100	100	50	0	100	100	100	0	100	100	100	0
0,5	"	0	0	0	"	"	20	0	"	"	95	0	"	"	90	0
0,3	"	0	0	0	"	"	6	0	"	"	75	0	"	"	75	0
0,2	"	0	0	0	"	"	0	0	"	"	50	0	"	"	55	0
0,1	"	0	0	0	"	"	0	0	"	"	35	0	"	"	35	0
0,07	"	0	0	0	"	90	0	0	"	"	16	0	"	"	12	0
0,05	"	0	0	0	"	70	0	0	"	"	6	0	"	"	0	0
0,03	"	0	0	0	"	50	0	0	"	90	0	0	"	80	0	0
0,02	"	0	0	0	"	30	0	0	"	70	0	0	"	60	0	0
0,01	"	0	0	0	"	10	0	0	"	55	0	0	"	45	0	0
0,007	90	0	0	0	90	4	0	0	90	35	0	0	85	30	0	0

II. Hemmung.

Globulinmenge ccm	M in der Verd. $\frac{1}{6}$ gefällt und erwärmt					M in der Verd. $\frac{1}{10}$ gefällt und erwärmt				
	0'	5'	10'	20'	30'	0'	5'	10'	20'	30'
0,3	100					100				
0,2	"	0	0	0	100	100	100	100	100	100
0,1	"	0	0	0	"	"	"	"	"	"
0,07	"	0	0	20	"	"	"	"	"	"
0,05	"	0	0	70	"	"	"	"	"	"
0,03	"	10	20	100	"	"	"	"	"	"
0,02	"	50	70	"	"	"	"	"	"	"
0,01	"	100	100	"	"	"	"	"	"	"

Diesen in diesen Versuchen gezeigten und in zahlreichen anderen Versuchen wiedergefundenen Unterschieden zwischen

in verschiedenen Verdünnungen niedergeschlagenen Globulinen zufolge ist es verständlich, daß die Aeüßerungen über die Thermoresistenz der Globuline untereinander so abweichend gewesen sind, solange nicht versucht war, wie der Erfolg wäre, wenn man das „Endstück“ später als das „Mittelstück“ zusetzte. Selbstverständlich ist es nicht ausgeschlossen, daß die eigentliche Bildung der Brandschen Modifikation in diesen Versuchen während der Zeit, welche verstreicht, bis die Temperatur 56° erreicht, vor sich geht, dies ist jedoch nach Versuch 9 unwahrscheinlich. In der Tat ergibt sich kaum ein, in jedem Falle kein erheblicher Unterschied zwischen der Thermoresistenz des „Mittelstückes“ in Globulinen, die in verschiedenen Verdünnungen niedergeschlagen sind, und die eigentliche Inaktivierung beruht kaum auf einer Entwicklung hemmender Funktionen, was in den angeführten Versuchen durch einen Vergleich der Resultate bei Verwendung von Globulinen, die während längerer Zeit erwärmt sind, ersichtlich ist. Während nämlich in beiden Fällen die „Mittelstück“-Funktion destruiert wird, ergibt sich nur in solchen Globulinen, welche im 5-fach verdünnten Serum niedergeschlagen sind, eine Bildung hemmender Funktionen ungespaltenem Serum gegenüber, und weit entfernt, an Stärke zu wachsen, werden diese während der Erhitzung destruiert und sind nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° verschwunden. Nur in ganz einzelnen Fällen habe ich eine Hemmung mit Globulinen, die $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt waren, nachweisen können.

Für Versuche der bisher erwähnten Art ist es selbstverständlich notwendig, sich Fraktionen, welche geneigt sind, hemmende Funktionen zu bilden, verschaffen zu können. Selbst bei Anwendung ganz desselben Verfahrens ist es indessen sehr schwierig, Globuline mit denselben Eigenschaften zu erhalten. Globuline, in 5-fach verdünntem Serum niedergeschlagen, können z. B. eine recht verschiedene Tendenz, die Brandsche Modifikation zu bilden, aufweisen. Einige können, wie erwähnt, gleich nach der Lösung umgebildet sein, andere haben in der Verdünnung $\frac{1}{1}$ bis 3 Stunden bei 37° stehen können, ohne größere Mengen hemmender Funktionen zu bilden. Globuline älterer Sera sind immer mehr als Globuline frischer Sera geneigt gewesen, hemmende Funktionen zu

bilden; wenn die Brandsche Modifikation gleich nach der Lösung anwesend war, hat es sich in der Regel um Globuline älterer Sera gehandelt.

Wenn ein Serum erst in 5-facher Verdünnung mit Kohlensäure behandelt, von dem entstandenen Niederschlage zentrifugiert, mit destilliertem Wasser weiter verdünnt und abermals mit Kohlensäure behandelt wird, entsteht ein neuer Niederschlag, welcher an Menge recht wechselnd ist und in größerem oder geringerem Maße imstande ist, als „Mittelstück“ zu fungieren. Da Friedemann (l. c.) ausfindig gemacht hat, daß Albumine und Pseudoglobuline der Brandschen Modifikation entgegenwirken, und Thomsen und ich (l. c.) gezeigt haben, daß sich der erwähnte große Unterschied zwischen Globulinen, die in verschiedener Verdünnung ausgefällt sind, vorfindet, lag es nahe, zu vermuten, der Unterschied beruhe auf Globulinen (resp. anderen Stoffen), welche im Serum, das nur 5mal mit destilliertem Wasser verdünnt ist, nicht niedergeschlagen werden. Ich versuchte daher, ob ein späterer Zusatz dieses sekundären Niederschlages die Umbildungstendenz der Globuline, welche in 5-fach verdünntem Serum gefällt waren, herabsetzen könne; solches ist indessen nicht der Fall gewesen, weder als ich die sich leicht umbildenden Globuline in einer konzentrierten Lösung der bei der zweiten CO₂-Durchleitung niedergeschlagenen Globuline löste (Versuch 11), noch wenn ich den ersten Niederschlag nicht entfernte, sondern nach Verdünnung mit destilliertem Wasser wieder CO₂ durchleitete (Versuch 12). Dieser „doppelte“ Niederschlag hat dieselben Eigenschaften wie die aus 5-fach verdünntem Serum niedergeschlagenen Globuline, d. h. er bildet leicht hemmende Funktionen. Dagegen wird der Niederschlag, welcher bei der zweiten CO₂-Durchleitung entsteht, nur langsam umgebildet (Versuch 13). Der von Thomsen und mir nachgewiesene große Unterschied zwischen Globulinen, die aus 5-fach und aus 10—20-fach verdünntem Serum niedergeschlagen sind, ist daher nur zu beobachten, wenn die Fällung auf einmal vorgenommen wird.

Versuch 11. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm. 5 ccm frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,01 ccm) wird in der Verdünnung

mit CO_2 gespalten, das Sediment abzentrifugiert, $\frac{1}{10}$ gelöst und 3 Stunden bei 37° belassen (M_1). Der Abguß wird auf $\frac{1}{10}$ verdünnt, CO_2 durchgeleitet und der neu entstandene Niederschlag in 1 ccm Kochsalzlösung gelöst, hierin wird der Niederschlag aus 1 ccm desselben Serums in 5-facher Verdünnung mit CO_2 gespalten, gelöst und diese Lösung auch 3 Stunden bei 37° belassen (M_2). Gleich nach der Lösung ist der Titer ($M + E$ $\bar{a}\bar{a}$) = 0,01 ccm. 0,1 ccm von jeder Fraktion ergibt allein keine Hämolyse.

M-Menge ccm	0,02 E sofort		0,02 E $\frac{1}{2}$ Std. nach M	
	M_1	M_2	M_1	M_2
0,1	0	0	100	100
0,07	0	0	"	"
0,05	0	0	"	"
0,03	10	0	"	"
0,02	12	10	90	"
0,01	16	20	70	90

Hemmung gegenüber 0,01 ccm ungespaltenem Komplement.

M-Menge	M_1	M_2	M-Menge	M_1	M_2
0,1	0	0	0,02	80	.
0,07	10	0	0,01	90	55
0,05	25	.	0,007	100	.
0,03	40	25			

Versuch 12. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm. Von frischem Meerschweinchenserum wird eine Portion in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO_2 gespalten, $M \frac{1}{10}$ gelöst und 2 Stunden bei 37° aufbewahrt (M_1). Eine andere Portion wird erst in derselben Weise behandelt, aber gleich nach der CO_2 -Durchleitung wird mit destilliertem Wasser auf $\frac{1}{10}$ verdünnt, wieder CO_2 durchgeleitet, der gesamte Niederschlag $\frac{1}{10}$ gelöst und auch 2 Stunden bei 37° aufbewahrt (M_2). Geprüft mit 0,02 ccm E (aus $\frac{1}{10}$ verdünntem Serum), das allein keine Hämolyse ergibt. Titer des genuinen Serums = 0,013 ccm, des zusammengesetzten = $\bar{a}\bar{a}$ E + M 0,016 ccm.

M-Menge ccm	E sofort		E 1 Std. nach M	
	M_1	M_2	M_1	M_2
0,1	0	0	100	100
0,07	0	0	"	"
0,05	0	0	"	"
0,03	0	0	90	90
0,02	0	0	70	70
0,01	0	0	45	45

Versuch 13. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm. 4 ccm frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,015) $\frac{1}{5}$ verdünnt, mit CO_2 gespalten, der Niederschlag mit 4 ccm Kochsalzlösung gelöst (M_1). Der Abguß auf $\frac{1}{10}$ verdünnt, abermals CO_2 durchgeleitet, der jetzt entstandene

Niederschlag in 4 ccm Kochsalzlösung gelöst (M_1). Beide Lösungen 3 Stunden bei 37°. E = 0,025 ccm Meerschweinchen-Endstück (aus 10-fach verdünntem Serum), das keine Eigenhämolyse hervorruft.

M-Menge ccm	E sofort		E 1 Std. nach M	
	M_1	M_2	M_1	M_2
0,2	25	100	100	100
0,1	40	100	„	90
0,07	50	90	„	80
0,05	50	80	„	70
0,03	70	70	„	35
0,02	60	45	„	25
0,01	55	30	90	6
0,007	50	12	55	0

Hemmung auf ungespaltenes Komplement; 0,015 ccm Komplement, 2 $\frac{1}{2}$ -fach sensibilisiertes Blut, 1 Stunde Bindung bei 37°.

M-Menge	M_1	M_2	M-Menge	M_1	M_2
0,5	.	100	0,05	10	100
0,2	0	„	0,02	70	„
0,1	0	„	0,01	100	„

Da sich ergeben hatte, die Wasserstoffionenkonzentration habe eine große Bedeutung in bezug auf die Geschwindigkeit, mit welcher sich die Brandsche Modifikation entwickelt, ließ sich denken, der zwischen Globulinen, die aus verschiedenen stark verdünntem Serum niedergeschlagen waren, nachgewiesene große Unterschied der Tendenz, hemmende Funktionen zu bilden, beruhe darauf, daß in Lösungen der verschiedenen Globuline verschiedene Wasserstoffionenkonzentration wäre. Dies ist jedoch nicht der Fall (Versuch 14).

Versuch 14. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,015) mit CO_2 in den Verdünnungen 1) $\frac{1}{6}$ und 2) $\frac{1}{10}$ gespalten. Die Sedimente mit CO_2 -freiem destillierten Wasser gewaschen und in CO_2 -freier Kochsalzlösung $\frac{1}{6}$ gelöst (M_1 und M_2).

pH der Lösungen bei 18° elektrometrisch gemessen: M_1 = 6,91, M_2 = 6,88.

Nach 4-stündigem Lagern der Lösungen bei 18° mit gleichzeitigem Zusatz von 0,02 ccm E_2 :

M-Menge	M_1	M_2	M-Menge	M_1	M_2
0,1	0	100	0,03	20	100
0,07	0	„	0,02	30	100
0,05	0	„	0,01	25	90

Die Wirkungsart der Brandschen Modifikation ist der Gegenstand vieler Diskussionen gewesen; aus den Brandschen Untersuchungen ging hervor, daß die Hemmung gegen das Mittelstück nicht gerichtet sein kann, weil sie die Bindung desselben nicht verhindert. Hecker (l. c.) wies nach, daß sie auch nicht gegen das Endstück gerichtet ist, weil sich Hämolyse ergibt, auch wenn die überschüssige Flüssigkeit nicht abzentrifugiert wird, weshalb er vermutete, es handle sich um eine Modifikation des Mittelstückes selbst. Die Ursache, warum bei gleichzeitigem Zusatz der Fraktionen sich nicht Hämolyse ergibt, ist nach Hecker, weil das Endstück die Bindung des Mittelstückes, wenn die Brandsche Modifikation zugegen ist, hindert. Mit der Ehrlichschen Theorie übereinstimmend, erklärte er diese Beobachtung mit der Annahme, das umgebildete „Mittelstück“ habe zu dem „Endstück“ größere Affinität. Während die Erklärung gewiß nicht aufrechterhalten werden kann, ist das tatsächliche Verhältnis, das übrigens nicht nachgeprüft worden ist, ganz korrekt.

Versuch 15. Frisches Meerschweinchenserum in Verdünnung $\frac{1}{6}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst, die Lösung 1 Stunde bei 37° aufbewahrt, dann ist Brandsche Modifikation entwickelt, gleichzeitiger Zusatz der Fraktionen ruft keine Hämolyse hervor. Ambozeptoreinheit 0,002 ccm.

20-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung ccm	M $\frac{1}{1}$ ccm	E $\frac{1}{10}$ ccm	0,9-proz. NaCl ccm		Hämolyse, nach 2 Std. 37°
0,25	0,1	0	1,15	1 Stunde bei 37° hingestellt, dann zentrifugiert,	100
„	0,05	0	1,2	die Röhrchen sehr sorgfältig mit Baumwolle abgetrocknet, 0,3 ccm	100
„	0,01	0	1,24	$\frac{1}{10}$ E und 0,9-proz. NaCl ad 1,25 ccm hinzugefügt	70
„	0	0	1,25		0
„	0,1	1,0	0,15		0
„	„	0,7	0,45		0
„	„	0,5	0,65		0
„	„	0,3	0,85		0

Die Menge Albuminfraktion, welche genügt, um die Bindung des „Mittelstückes“ zu verhindern, ist sehr gering. Daß es sich indessen nicht um eine Wirkung des „Endstückes“ selbst, sondern um andere Funktionen der Albuminfraktion handelt, geht aus dem folgenden Versuche hervor; denn das Vermögen,

die Bindung des „Mittelstückes“ zu verhindern, ist nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 56° beinahe ungeschwächt. Da das „Endstück“ bei dieser Temperatur nach Verlauf einiger Minuten destruiert ist, muß die Erklärung notwendigerweise eine andere als die von Hecker gegebene sein.

Versuch 16. Frisches Meerschweinchenserum nach Sachs und Altmann gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst und 3 Stunden bei 37° belassen. E neutralisiert, isotonisch gemacht und teils Reihe A aktiv, teils Reihe B inaktiv ($\frac{1}{1}$ Stunde bei 56°) verwendet. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm.

10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung ccm	M $\frac{1}{1}$ ccm	E ccm	0,9-proz. NaCl ccm		Hämo-lyse	
					A	B
0,25	0,05	1,0 $\frac{1}{10}$	0	1 Stunde bei 37° , dann zentrifugiert, die Röhren sorgfältig abgetrocknet, 0,25 ccm aktives E $\frac{1}{10}$ und 0,9-proz. NaCl auf 1,25 ccm hinzugesetzt	0	0
"	"	0,5	0,5		0	0
"	"	0,2	0,8		0	0
"	"	0,1	0,9		0	0
"	"	0,5 $\frac{1}{100}$	0,5		0	40
"	"	0,2	0,8		50	90
"	"	0,1	0,9		90	100
"	"	0,05	0,95		100	"
"	"	0	1,0		"	"

Was die Art der hemmenden Funktionen betrifft, so ist, wie erwähnt, eins der Hauptargumente Friedemanns gegen die Brandsche Modifikation als ein umgebildetes „Mittelstück“ das Resultat einiger Versuche, in welchen es ihm gelang, die „Mittelstück“-Funktion zu entfernen, aber die hemmenden Eigenschaften zu bewahren (durch Behandlung mit sensibilisierten Blutkörperchen). Ich habe dies nachgeprüft und ähnliche Ergebnisse gefunden.

Versuch 17. Volumen 1,25 ccm. Ambozeptoreinheit 0,0008 ccm. 2 ccm Meerschweinchenserum mit CO_2 in der Verdünnung $\frac{1}{1}$ gespalten; M in 2 ccm Kochsalzlösung gelöst und 2 Stunden bei 37° belassen. Zu dem 1 ccm 1) wird das Sediment aus 100 ccm 20-fach sensibilisierter 5-proz. Hammelblutaufschwemmung (5 ccm), mit Kochsalzlösung zweimal gewaschen, hinzugesetzt; zu dem anderen 2) 5 ccm nicht sensibilisierte Blutkörperchen, beide werden 1 Stunde bei 37° hingestellt, dann zentrifugiert und auf Mittelstückfunktion und hemmende Funktionen geprüft.

M-Menge ccm	Mittelstückfunktion				Hemmende Funktion	
	0,25 ccm 20-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung				0,01 ccm Komplement, 1 Std. Bindung, 0,25 ccm 2 $\frac{1}{2}$ -fach sensibil. 5-proz. Hammelblutaufschwemmung	
	0,02 ccm E sofort		0,02 ccm E, 1 Std. nach M			
	M ₁	M ₂	M ₁	M ₂	M ₁	M ₂
0,1	0	0	0	100	0	0
0,07	0	0	0	"	0	0
0,05	0	0	0	"	10	0
0,03	0	0	0	90	40	35
0,02	0	0	0	70	60	60
0,01	0	0	0	50	100	100

In anderen Versuchen ist der Unterschied weniger ausgesprochen, doch aber immer deutlich gewesen. Wenn man dagegen ungespaltenes Meerschweinchenserum mit stark sensibilisierten Blutkörperchen behandelt, bilden die aus solchem Serum in 5-facher Verdünnung ausgefallten Globuline weniger leicht hemmende Funktionen als Globuline, die aus unbehandeltem Serum in derselben Verdünnung gewonnen wurden.

Versuch 18. 2 ccm Meerschweinchenserum wird 16 Stunden bei 0° mit 2 ccm 50-fach sensibilisierten und zweimal gewaschenen Hammelblutkörperchen behandelt, nach Zentrifugierung in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO₂ gespalten. M $\frac{1}{5}$ gelöst (M₁). Eine andere Portion Meerschweinchenserum, das unbehandelt gestanden, wird in Verdünnung $\frac{1}{5}$ gespalten, M $\frac{1}{5}$ gelöst (M₂). Beide M-Lösungen werden 4 Stunden bei 37° aufbewahrt. E = 0,02 ccm E aus Serum 2; Titer für Serum 1 = 0,1 ccm, für Serum 2 = 0,01 ccm. Volumen 1,25 ccm.

M-Menge ccm	Mittelstückfunktion		Hemmende Funktion	
	0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. E $\frac{1}{2}$ Std. nach M		0,25 ccm 2 $\frac{1}{2}$ -fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. 0,001 ccm Komplement, keine Bindung	
	M ₁	M ₂	M ₁	M ₂
0,1	100	.	30	0
0,07	90	.	70	0
0,05	50	100	90	20
0,03	30	"	100	70
0,02	16	"	"	100
0,01	4	80	.	.

5*

Auch durch passende Behandlung des Serums mit Kaolin [vgl. Michaelis und Rona¹⁾] wird sowohl die Mittelstückfunktion als auch die Fähigkeit (während der Versuchszeit), hemmende Funktionen zu bilden, entfernt. Da Iscovesco²⁾ angibt, Menschenglobulin durch Dialyse gewonnen, sei sofort elektropositiv, beim Stehen in schwacher Kochsalzlösung in positive und negative gespalten worden [bei Ueberführungsversuchen hat Schmidt³⁾ gefunden, daß Menschenglobuline sowohl an die positive als an die negative Elektrode gehen], dachte ich an die Möglichkeit, es bestehe ein Zusammenhang zwischen dieser Spaltung und der Bildung der Brandschen Modifikation, welche ja eben auch in schwachen Kochsalzlösungen entsteht, und ich wollte die eine Funktion entfernen und die andere in Lösung behalten durch Behandlung umgebildeter Globuline mit negativen und positiven Suspensionen und kolloidalen Lösungen. Sowohl Kaolin als Kieselsäure (Suspension und kolloidale Lösung) samt Ferrichlorid (Suspension und kolloidale Lösung) haben indessen in den Versuchen beide Funktionen entfernt, Ferrichlorid in einigen Versuchen jedoch so gut wie nichts von beiden Funktionen. Inwiefern die erwähnte Spaltung mit der Bildung Brandscher Modifikation einige Verbindung hat, muß ich daher unentschieden lassen, meine Versuche sprechen nicht dafür, auf der anderen Seite liefern sie aber keinen Gegenbeweis, teils mögen die Funktionen passiv mitgerissen werden, teils mag auch [Gengou⁴⁾] zwischen gleichbeladenen Kolloiden Adsorption vor sich gehen. Ueber die Art der hemmenden Funktionen habe ich deshalb versucht, auf andere Weise Aufklärung zu verschaffen. Von dem von Liefmann⁵⁾ nachgewiesenen Umstande, die Fähigkeit luetischer Seren die Wassermannsche Reaktion zu ergeben, befinde sich in den Globulinen, ausgehend und auf die Untersuchungen Friedemanns (l. c.) gestützt, prüften Thomsen und ich den Einfluß alkoholischer Herzextrakte auf Globuline. Mit diesen

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 2, 1907, p. 219, und Bd. 5, 1907, p. 365.

2) Compt. rend. Soc. Biol., T. 60, p. 648, und T. 61, 1906, p. 193.

3) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 1911, p. 513.

4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 1911, p. 341.

5) Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 41.

Mischungslipoiden hatten wir und habe ich bei fortgesetzten Untersuchungen recht wechselnde Resultate erhalten. In gewissen Fällen verursachte ein Zusatz des Extraktes vor der Spaltung, daß die Tendenz der Globuline, hemmende Funktionen zu bilden, herabgemindert würde; an dieser Wirkung ist der Alkohol nicht schuld (Versuch 19). In anderen Versuchen war die Tendenz nur herabgemindert, wenn so viel Extrakt hinzugesetzt war, daß die darin enthaltene Alkoholmenge eine Fällung hervorrief. Wiederum in anderen Versuchen hat der Zusatz von Extrakt dagegen verursacht, daß Globuline, welche sonst hemmende Funktionen nicht bilden, umgebildet werden (Versuch 20). Bei Zusatz von Herzextrakt zu den auf gewöhnliche Weise niedergeschlagenen Globulinen habe ich ebenfalls verschiedene Ergebnisse erhalten. In diesen Versuchen hat ein Zusatz von Herzextrakt jedoch nie eine Hemmung der Bildung der Brandschen Modifikation bedingt, entweder ist der Zusatz ohne Wirkung erschienen, oder er hat die Umbildungstendenz vermehrt.

Versuch 19. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. E = 0,03 ccm Endstück aus No. 3, gibt allein nach 24 Stunden keine Hämolyse.

- 1) 2 ccm Meersch.-Ser. + 7,5 ccm dest. Wasser + 0,5 ccm alkoh. Herzextrakt,
- 2) 2 " " + 7,5 " " " + 0,5 " 96-proz. Alkohol,
- 3) 2 " " + 8,0 " " " "

werden mit CO₂ gespalten, die Sedimente $\frac{1}{1}$ gelöst (M₁, M₂, M₃). M-Titer sofort: 0,06, 0,02 und 0,02 ccm. Alle drei Lösungen 2 Stunden bei 37° aufbewahrt und dann untersucht. 0,05 ccm M₁₋₃ allein keine Hämolyse.

M-Menge ccm	E sofort			E $\frac{1}{1}$ Std. nach M		
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃
0,15	100	60	40	100	100	100
0,1	"	"	45	"	"	"
0,07	"	"	45	"	"	"
0,05	90	70	55	90	"	"
0,03	80	70	60	80	"	"
0,02	70	60	50	70	"	"

Versuch 20. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. E = 0,015 ccm Albumin aus No. 3, das allein keine Hämolyse gibt.

- 1) 1 ccm Meersch.-Ser. + 4,0 ccm dest. Wasser + 0 ccm alkoh. Herzextrakt,
- 2) 1 " " + 3,75 " " " + 0,25 " " "
- 3) 1 " " + 9,0 " " " + 0 " " "
- 4) 1 " " + 8,5 " " " + 0,5 " " "
- 5) 1 " " + 8,75 " " " + 0,25 " " "

M-Menge ccm	E sofort					E 1 Std. nach M				
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅
0,1	0	0	100	0	0	100	100	100	100	100
0,07	0	0	"	0	0	"	"	"	"	"
0,05	0	20	"	30	10	"	"	"	"	"
0,03	20	40	"	40	30	"	"	"	"	"
0,02	30	80	"	70	50	80	80	"	90	90
0,01	40	60	90	70	50	70	70	90	80	80

Wegen dieser wenig übereinstimmenden Ergebnisse und der variierenden und komplizierten Zusammensetzung der Extrakte habe ich einige reinere Lipide: oleinsaures Natrium und zwei Lecithinpräparate verwendet. Wie von mehreren Verfassern (unter anderen Sachs und Altmann, l. c.) erwähnt, hemmt oleinsaures Natron die Komplementhämolyse, diese Hemmung ist bei Dosen, welche ohne Serum selbst Hämolyse hervorrufen, höchstgradig ausgesprochen. Zwischen dieser Hemmung und der von der Brandschen Modifikation hervorgerufenen findet sich jedoch keine Aehnlichkeit, denn ein späterer Zusatz von Endstück gibt keine bessere Hämolyse, wenn erst Mittelstück und oleinsaures Natron zugesetzt wird [cfr. Liefmann und Cohn¹⁾]. Dagegen ist es mir gelungen, durch Zusatz von oleinsaurem Natron zu Globulinen und Aufbewahren bei 37° eine Bildung von Brandscher Modifikation in solchen Globulinen, welche sonst nicht umgebildet werden, hervorzurufen.

Versuch 21. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. 6 Portionen à 1 ccm Meerschweinchen-serum werden mit CO₂ in Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten, die Sedimente aufgenommen in

- 1) 1 ccm $\frac{1}{10}$ -prom. oleinsaures Natron in dest. Wasser,
- 2) 1 " $\frac{1}{10}$ -prom. " " in 0,9-proz. NaCl-Lösung,
- 3) 10 " $\frac{1}{100}$ -prom. " " in dest. Wasser,
- 4) 10 " $\frac{1}{100}$ -prom. " " in 0,9-proz. Kochsalzlösung,
- 5) 1 " 0,9-proz. Kochsalzlösung,
- 6) 10 " 0,9-proz. " "

$1\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° belassen und dann untersucht mit 0,02 ccm E, das allein keine Hämolyse ergibt.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 6, 1910, p. 88.

M-Menge ccm	E sofort						E 1 Std. nach M					
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆
0,1	0	0	40	10	100	100	100	100	100	100	100	100
0,07	0	0	40	20	90	"	"	"	"	"	"	"
0,05	0	20	50	20	80	"	"	"	"	"	"	"
0,03	0	40	60	40	80	"	"	"	"	"	"	"
0,02	0	50	70	50	90	"	90	"	"	"	"	"
0,01	0	30	70	50	80	90	70	90	90	90	90	90

Wiederholte Versuche haben im wesentlichen die nämlichen Ergebnisse ergeben. Bei gleichzeitigem Zusatz vermögen die verwendeten Mengen von oleinsaurem Natron nicht die Hämolyse zu hemmen. Indem man Seife hinzusetzt, kann man also erreichen, daß Globulinen, aus 10-fach verdünntem Serum niedergeschlagen, umgebildet werden, sogar obschon in geringerem Maße, wenn sie in einem vom ursprünglichen Volumen 10-fachen Volumen Kochsalzlösung gelöst werden. Die Globuline bilden ferner, wie es auch der angeführte Versuch zeigt, bei Aufbewahrung in destilliertem Wasser hemmende Funktionen, was sonst nie der Fall ist. Hierzu sei jedoch bemerkt, daß Globuline in destilliertem Wasser bei Zusatz von Seife gelöst werden. Je stärker die Konzentration, desto besser werden die Globuline von der gleichen Menge Seife gelöst. So waren die Globuline im Versuch 21 in 1 ccm $\frac{1}{2}$ -prom., nicht aber in 10 ccm $\frac{1}{20}$ -prom. Seifenlösung gelöst. Bei Zusatz von Seife zu Serum vor der Spaltung wurde dagegen keine vermehrte Umbildung gefunden, die Globuline waren aber weit mehr hämolytisch als sonst.

Unter gewissen Bedingungen vermag Seife (oleinsaures Natron) also die Bildung der Brand-schen Modifikation hervorzurufen resp. zu verstärken.

Dasselbe Resultat hat Friedemann mittels einer etwas anderen Motivierung und einer anderen Technik erreicht. Seine Aufmerksamkeit wurde auf die Lipide durch die von ihm bei Mischung von Albuminen und Globulinen gefundene Verdünnungserscheinung gerichtet, weil solche Dissoziationsverhältnisse, die Eiweißstoffe betreffend, nicht bekannt sind. Friedemann und Rozenblatt¹⁾ geben an, daß bei Be-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 14, 1912, p. 42.

handlung von Serum und Globulinen [nach Friedemann und Herzfeld¹⁾ auf Filtrierpapier eingetrocknet] mit Alkohol, nicht mit Aether den Globulinen die Fähigkeit, Brandsche Modifikation zu bilden, abgehe. Die Verfasser geben weiter an, auf Rozenblatts²⁾ Untersuchungen gestützt, die Ursache sei eine Entfernung von Seifen. Aehnliche Untersuchungen habe ich gleich nach der Erscheinung der Arbeit von Friedemann und Herzfeld vorgenommen, eben weil ich den oben erwähnten Einfluß oleinsauren Natrons auf die Umbildung der Globuline gefunden hatte. Ehe ich mich indessen über die Frage der Brandschen Modifikation ausspreche, muß ich zuerst den Einfluß der Eintrocknung und der Extraktion auf die Komplementfunktion berühren.

Versuch 22. Meerschweinchenserum wird nach Friedemann und Herzfeld auf Filtrierpapier eingetrocknet, 0,5 ccm auf jeden Streifen. Die Streifen werden die angegebene Zeit mit wasserfreiem Alkohol oder Aether behandelt, wieder getrocknet und dann jeder Streifen mit 5 ccm Kochsalzlösung ausgezogen. Komplementtiter im Volumen 2,5 ccm für 0,5 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung bestimmt.

Titer des nicht eingetrockneten Serums = 0,025 ccm.

Eingetrocknetes Serum	Komplementtiter		
	extrahiert mit Aether	extrahiert mit Alkohol	nicht extrahierte Kontrolle
$\frac{1}{2}$ Std. extrahiert	0,03 ccm	0,08 ccm	.
1 " "	0,03 "	0,08 "	0,04 ccm
2 " "	0,03 "	0,08 "	0,03 "
3 " "	0,03 "	0,08 "	.
4 " "	0,03 "	0,08 "	.
6 " "	0,03 "	0,08 "	.

Der Versuch ist mehrmals wiederholt worden, die Ergebnisse haben immer die Angaben Friedemanns und Herzfelds, daß es möglich sei, eingetrocknetes Serum sowohl mit Aether als auch mit Alkohol zu behandeln, ohne das Komplement zu destruieren, bestätigt. In den meisten Versuchen bewirkte der Alkohol, wie in dem angeführten, einige Schwächung, diese stand jedoch in keinem Verhältnisse weder zu der verwendeten Alkoholmenge noch zu der Dauer der Extraktion. Ich dachte daher an die Möglichkeit, daß diese Schwächung während des Trocknens nach der Extraktion er-

1) Berl. klin. Wochenschr., 1911, p. 2106.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 14, 1912, p. 62.

scheine, weil der Alkohol ja viel längere Zeit als der Aether zum Verdampfen braucht. Vor dem Trocknen der mit Alkohol extrahierten Streifen tauchte ich sie daher ganz kurze Zeit in Aether, wodurch das Trocknen erheblich beschleunigt wurde, die Schwächung des Komplementes war hiernach weit geringer. Denselben Ausweg haben auch Friedemann und Rozenblatt benutzt. Die Extraktion kann sehr lange fortgesetzt werden, ohne das Komplement zu destruieren; so habe ich 0,5 ccm eingetrocknetes Serum mit über 200 ccm Alkohol und Aether während 8 Tagen bei Zimmertemperatur behandelt und doch beinahe unveränderten Komplementtiter erhalten. Selbst ein geringer Gehalt von Wasser im Alkohol wirkt dagegen schnell destruierend, durch 96-proz. Alkohol wird die Komplementfunktion im Verlauf von 1 Stunde komplett destruiert.

Während ich so in betreff der Komplementfunktion ganz denselben Erfolg wie Friedemann und Herzfeld erreicht habe, hat die Untersuchung der Extrakte mir etwas andere Resultate als Rozenblatt, welcher sich freilich wesentlich Menschenserums bedient hat, gegeben. Während alle seine Alkoholextrakte sogar erheblich hämolysierten, haben Alkoholextrakte meiner eingetrockneten Meerschweinchenserum nur geringe oder keine nachweisbare hämolytische Fähigkeit gehabt, insofern der verwendete Alkohol wasserfrei war. Dagegen haben Extrakte mit 96-proz. Alkohol immer recht bedeutende Hämolysen ergeben.

Versuch 23. 4 Streifen mit 1,0 ccm Serum, nach Friedemann und Herzfeld eingetrocknet, werden 1 Stunde extrahiert mit 1) 5 ccm, 2) 10 ccm 100-proz. Alkohol, 3) 5 ccm, 4) 10 ccm 96-proz. Alkohol. Die Extrakte werden bei 37° eingedampft und jeder in 5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Hämolyse							Hemmung							
0,9-proz. NaCl	5-proz. Hammelblut- aufschw.	Extrakt	Extrakt No.				Komplement	5-fach sensib. 5-proz. Hammelblut- aufschw.	0,9-proz. NaCl	Extrakt	Extrakt No.			
			1	2	3	4					1	2	3	4
0	0,25	1,0	0	0	100	100	0,007	0,25	0	1,0	0	0	100	100
0,5	"	0,5	0	0	70	"	"	"	0,5	0,5	4	0	40	100
0,8	"	0,2	0	0	25	"	"	"	0,8	0,2	10	8	4	50
0,9	"	0,1	0	0	10	50	"	"	0,9	0,1	20	20	20	8

0,007 Komplement allein Hämolysen 20.

Auch in betreff des Aussehens ergibt sich große Verschiedenheit der verschiedenen Extrakte; während Extrakte mit Aether und wasserfreiem Alkohol eine klebrige, fettige, schwer emulgierbare Masse darstellen, bilden Extrakte mit 96-proz. Alkohol leicht milchartige schäumende Lösungen. Während, wie aus Versuch 23 hervorgeht, alkoholische Extrakte aus Meerschweinchenserum auf Meerschweinchenkomplement hemmend wirken, besitzen ätherische Extrakte diese Eigenschaft nicht. Im Gegensatz zu diesen aus Meerschweinchenserum gewonnenen Extrakten waren einige aus eingetrockneten Kaninchenseren mit 100-proz. Alkohol hergestellten Extrakte sehr stark hämolytisch; ein Befund, der, wie mir scheint, für die Richtigkeit der Friedemannschen Auffassung spricht, insbesondere wenn man sich des Unterschiedes zwischen den mit Menschen- und mit Meerschweinchenserum gewonnenen Resultaten erinnert: Menschen- und Kaninchensera, deren Globuline leicht umgebildet werden, liefern beide stark hämolytische Extrakte, während Extrakte aus Meerschweinchenserum, dessen Globuline weniger leicht hemmende Funktionen bilden, weit weniger hämolytisch sind.

Was den Einfluß der Extraktion auf die Fähigkeit der Globuline die Brandsche Modifikation zu bilden, anlangt, so ist diese, wie von Friedemann und Rozenblatt angegeben, nach der Behandlung am häufigsten herabgemindert gewesen. In mehreren Fällen hat jedoch eine recht lange dauernde (bis 3 Stunden) Extraktion die Fähigkeit, hemmende Funktionen zu bilden, nicht herabgemindert ebensowenig hat eine Extraktion in einigen Fällen eine schon entwickelte hemmende Funktion entfernen können. (Versuch 24).

Versuch 24. Meerschweinchensera werden auf Filtrierpapier, 0,6 ccm auf jeden Streifen, eingetrocknet nach Friedemann und Herzfeld. Von jedem Serum wird 1 Streifen mit 12 ccm wasserfreiem Alkohol die erwähnte Zeit behandelt, der andere wird als Kontrolle benutzt. Nach dem Trocknen (mit Aether) wird jeder Streifen mit 6 ccm destilliertem Wasser extrahiert, hiervon werden 5 ccm mit CO₂ gespalten. Der Globulinniederschlag wird $\frac{1}{1}$ gelöst und die erwähnte Zeit bei 37° belassen und dann im Volumen 2,5 ccm mit 0,5 ccm 5-fach sensibilisierter 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, Titer Meerschweinchenkomplement und 1 Stunde Bindung untersucht. Verwendete Globulinmengen 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01 ccm.

Serum extrahiert	Globulinlösung bei 37°	Hämolyse mit	
		extr. Globulinen	Kontrolle
2 St.	3 St.	0, 30, 90, 100	0, 0, 0, 90, 100
1 1/2 "	3 "	100	0, 70, 90, 100
2 "	4 "	0, 70, 100	0, 0, 0, 0, 70
2 "	3 "	0, 0, 0, 10, 100	0, 0, 90, 100
6 "	3 "	100	100
2 "	2 "		90, 100
3 "	3 St. + 16 St. b. 16°	0, 0, 40, 100	0, 0, 20, 100
6 "	3 St.	100	100
3 "	4 "	"	"
3 "	3 "	"	"

Versuch 25. Meerschweinchenserum in Verdünnung $\frac{1}{2}$, mit CO₂ gespalten die Globuline $\frac{1}{2}$ gelöst und 24 Stunden bei 16° belassen (Glob. A). 7,2 ccm auf 12 Streifen eingetrocknet, die 6 Streifen 2 1/2, Stunde bei 18° mit 36 ccm wasserfreiem Alkohol extrahiert, mit Aether getrocknet und dann mit 18 ccm Kochsalzlösung extrahiert (Glob. B). Die anderen 6 Streifen werden mit 18 ccm Kochsalzlösung extrahiert (Glob. C).

Meerschwein- chenserum $\frac{1}{10}$	Globulin- menge	0,9 proz. NaCl		5-fach sensibilisiert. 5-proz. Hammelblut	Hämolyse mit Globulin		
					A	B	C
0,1	0,2	0,45	1 St. bei 37°	0,25	0	0	0
"	0,1	0,55		"	0	10	30
"	0,05	0,60		"	0	90	90
"	0,02	0,63		"	0	100	100
"	0,01	0,64		"	80	.	.
"	0,005	0,64		"	100	.	.

Daß eine Alkoholextraktion, ohne die Komplementfunktion in bemerkbarem Maße zu schwächen, die Fähigkeit resp. die Neigung, hemmende Funktionen zu bilden, entfernen kann, ergibt sich aus Versuch 26.

Versuch 26. 4 Portionen Meerschweinchenserum à 0,6 ccm werden nach Friedemann und Herzfeld auf Filtrierpapierstreifen eingetrocknet, 2 werden 1 1/2, Stunde mit 25 ccm wasserfreiem Alkohol bei 18° extrahiert, mit Aether getrocknet; dann werden diese (A) ebenso wie die anderen 2 (B) mit 12 ccm Kochsalzlösung extrahiert, worauf beide Lösungen 24 Stunden dialysiert werden. Die Niederschläge werden in je 2 ccm Kochsalzlösung gelöst und 4 Stunden bei 37° belassen und dann mit 0,03 ccm E (aus Meerschweinchenserum mit CO₂ gewonnen), das keine Eigenhämolyse besitzt, untersucht.

5-fach. sensibilis. 5-proz. Hammelbl. ccm	0,9- proz. NaCl ccm	E $\frac{1}{10}$ ccm	Glo- bulin ccm	E sofort		E 1 Std. n. M	
				A	B	A	B
0,25	0,5	0,3	0,2	100	0	100	100
"	0,6	"	0,1	"	0	"	"
"	0,63	"	0,07	"	0	"	"
"	0,65	"	0,05	"	0	"	90
"	0,67	"	0,03	90	0	90	70

Möglicherweise beruht dieser etwas wechselnde Erfolg — übrigens finden sich auch in Friedemanns und Rozenblatts Untersuchungen recht große Variationen — in jedem Falle teilweise auf einer mehr oder weniger leichten Lösbarkeit der am wenigsten löslichen Globuline. In bezug auf die nachfolgende Spaltung haben sowohl Friedemann und Rozenblatt als auch ich durchgehends mit destilliertem Wasser extrahiert. Und die am schwierigsten löslichen Globuline hätten ja infolge ihrer geringeren Dispersität besonders hemmend wirken sollen (Schmidt). Friedemann vermutet, der Unterschied sei dadurch bedingt, daß der Alkohol bessere oder geringere Gelegenheit erhalte, um koagulierend zu wirken. Die Komplementwirkung der Extrakte ist davon unabhängig, ob die Extraktion mit destilliertem Wasser oder mit Kochsalzlösung vorgenommen wird. Versuch 27.

Versuch 27. 4 Portionen Meerschweinchenserum à 0,5 ccm, werden nach Friedemann und Herzfeld auf Filtrierpapier eingetrocknet, 2 mit 10 ccm destilliertem Wasser extrahiert (A), die 2 anderen mit 10 ccm Kochsalzlösung (B). Zu A wird NaCl bis 0,9 Proz. hinzugesetzt.

5-fach sensibil. 5-proz. Hammelblutauf- schwemmung ccm	0,9-proz. NaCl ccm	Extrakt		
		Menge	A	B
0,25	0,8	0,2	100	100
"	0,84	0,16	90	90
"	0,87	0,13	70	70

Bei Verdünnung einer Globulinlösung, in welcher sich hemmende Funktionen befinden, mit destilliertem Wasser und Durchleitung von CO₂ habe ich in einigen Fällen gesehen, daß dadurch die hemmende Funktion wesentlich entfernt wurde, während die Mittelstück-Funktion in Lösung blieb, in anderen

Versuchen hat die Flüssigkeit indessen beide Funktionen behalten, und der Niederschlag ist ohne nachweisbare Wirkung gewesen.

So viel halte ich mich mit Friedemann befugt zu schließen, daß Seifen bei der Bildung hemmender Funktionen, welche als Brandsche Modifikation bezeichnet werden, eine Rolle spielen können. Der erwähnte Unterschied zwischen den Ergebnissen Rozenblatts und den meinigen spricht ja dafür, daß Menschenserum mehr Seifen als Meerschweinchenserum enthält, und dadurch läßt sich wohl erklären, daß Menschenglobuline leichter als Meerschweinchglobuline umgebildet werden.

Nach diesen Untersuchungen war der Gedanke recht nahelegend, die von umgebildeten Globulinen hervorgerufene Hämolyse hätte einen ganz anderen Mechanismus als die gewöhnliche komplexe Hämolyse und wäre in der Tat eine Seifenhämolyse, die Wirkung der Albumine wäre dann nur eine Beschleunigung, wie sie von v. Liebermann u. a. bei der Seifenhämolyse beschrieben ist. Hierfür könne auch sprechen, daß die Hämolyse bei Zusatz von Albumin sehr schnell eintritt, wenn man sich umgebildeter Globuline bedient, ebenso wie bei der Benutzung von Seifen. Es haben sich jedoch in meinen Untersuchungen Tatsachen ergeben, welche der Identität der beiden Hämolyseformen direkt widersprechen. Freilich ist es [Liefmann und Cohn¹⁾] nur die Albuminfraktion, welche in Verbindung mit Seifen augenblickliche Hämolyse hervorrufen kann, nur solche Seifenmengen können aber diese Erscheinung hervorrufen, welche selbst allein hämolysieren [F. Sachs²⁾]; die Hämolyse erscheint ferner auch ohne Gegenwart eines Ambozeptors, und das Serum resp. die Albuminfraktion vermag auch nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 56° augenblickliche Hämolyse hervorzurufen [v. Dungern und Coca³⁾]. Im Widerspruch hierzu haben umgebildete Globuline keine eigenhämolytische Fähigkeit (in jedem Falle nicht in den Dosen, welche als Mittelstück wirken können), weder mit noch ohne Ambozeptor und Zusatz von Albumin

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig., Bd. 6, 1910, p. 88.

2) Biochem. Zeitschr., Bd. 12, 1908, p. 278.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 348.

ruft Hämolyse nicht hervor, wenn entweder der Ambozeptor fortgelassen oder das Albumin inaktiviert wird.

Von anderen Lipoiden habe ich 2 Lecithinpräparate, das eine nach Noguchi (Stammlösung in 96-proz. Alkohol), das andere nach Erlandsen („Er-Lecithin“ von Teruuchi) dargestellt, untersucht. Beide Präparate haben einen unverkennbaren, jedoch verschiedenen Einfluß auf die Tendenz der Globuline, die Brandsche Modifikation zu bilden, gehabt.

Versuch 28. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte, 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Meer-schweinchenserum $\frac{1}{10}$ verdünnt, mit CO_2 gespalten. $\text{M} \frac{1}{10}$ gelöst (M_1). 2 ccm desselben Serums mit 17,5 ccm destilliertem Wasser und 0,5 ccm 1-proz. alkoholischer Er-Lecithinlösung verdünnt, mit CO_2 gespalten, $\text{M} \frac{1}{10}$ gelöst (M_2). 2 ccm desselben Serums mit 17,5 ccm destilliertem Wasser und 0,5 ccm 1-proz. alkoholischer Noguchi-Lecithinlösung verdünnt, mit CO_2 gespalten, $\text{M} \frac{1}{10}$ gelöst (M_3). Die Albumine werden isotonisch gemacht ($\text{E}_1, \text{E}_2, \text{E}_3$).

Titer sofort $\bar{a} \bar{a} \text{E}_1 + \text{M}_1 = 0,02 \text{ ccm.}$

Menge ccm	Albumine			Globuline					
				sofort			nach 2 St. bei 37° und 20 St. bei 0°		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,1	60	0	10	10	100	60	0	60	0
0,07	50	0	8	0	100	50	0	60	0
0,05	30	0	0	0	90	40	0	40	0
0,03	20	0	0	0	70	25	0	20	0
0,02	10	0	0	0	40	12	0	0	0
0,01	0	0	0	0	16	0	0	0	0

Globul.- menge ccm	E_1	sofort			nach 2 Stund. Aufenthalt der Globuline bei 37°			nach M 2 Std. bei 37° und 20 Stunden bei 0° gest.			nach M noch 3 Stunden bei 37° gest.		
		M_1	M_2	M_3	M_1	M_2	M_3	M_1	M_2	M_3	M_1	M_2	M_3
0,07	0,02 ccm sofort	100	100	100	100	100	20	100	100	90	100	20	20
0,05		"	"	"	"	"	20	"	"	90	"	25	16
0,03		"	"	"	"	"	25	"	"	100	"	25	16
0,02		"	"	"	"	"	30	"	"	90	90	20	14
0,01		90	"	"	"	"	40	80	90	70	70	25	16
0,005		70	90	90	70	90	20	50	60	40	30	25	12
0,07	0,02 ccm 1 Std. nach M	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	10	100
0,05		"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	10	100
0,03		"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	8	85
0,02		"	"	"	"	"	"	"	"	90	70	8	60
0,01		90	"	"	90	90	90	60	70	80	55	8	25
0,005		70	90	90	50	40	40	40	50	50	25	8	8

M ₁	E	E ₁	E ₂	E ₃	Meer- schwein- chenkom- plement ccm	1-proz. Lecithin ccm	Noguchi	Er-Lecithin
0,02	0,07	100	100	100				
"	0,05	"	"	"				
"	0,03	"	"	"				
"	0,02	"	"	"	0,007	0,02	30	35
"	0,01	90	"	"	"	0,015	35	40
"	0,005	70	80	80	"	0,01	40	"
					"	0	"	"

E ₁	+ 0,012 ccm 1-proz. Lecithin Noguchi	+ 0,012 ccm 1-proz. Er-Lecithin	M ₁	+ 0,012 ccm 1-proz. Lecithin Noguchi	+ 0,012 ccm 1-proz. Er-Lecithin	E ₁	Lecithinmenge	Noguchi	Er-Lecithin	M ₁	Lecithinmenge	Noguchi	Er-Lecithin
ccm			ccm			ccm	ccm			ccm	ccm		
0,1	70	50	0,1	12	8	0,05	0,02	30	15	0,05	0,02	10	6
0,07	60	30	0,07	10	4	"	0,015	"	20	"	0,015	10	6
0,05	30	12	0,05	6	2	"	0,01	"	20	"	0,01	12	8
0,03	10	8	0,03	0	0	"	0,005	25	16	"	0,005	12	10
0,02	8	4	0,02	0	0	"	0,002	25	20	"	0,002	8	10
0,01	0	0	0,01	0	0	"	0,001	30	25	"	0,001	10	12

Keins der Lecithinpräparate hat in Dosen bis 0,01 ccm der 1-proz. Lösung hämolytische Wirkung.

In diesem Falle ist nur in der Lösung, der Noguchi-Lecithin hinzugesetzt war, die Brandsche Modifikation gebildet worden. Beim Stehen bei 0° ist die hemmende Funktion erheblich zurückgebildet worden, erscheint aber wieder beim Stehen der Globulinlösung bei 37°. Beide Lecithine, besonders Er-Lecithin, haben die hämolytische Fähigkeit der Globuline vermehrt. An ungespaltenes Komplement oder an gewöhnliche Fraktionen hinzugesetzt, hat keines der Präparate einige Wirkung, ebensowenig wie sie allein in den verwendeten Dosen einige hämolytische Wirkung ergaben. In 5 Versuchen mit Noguchi-Lecithin ist die Tendenz, die Brandsche Modifikation zu bilden, immer erhöht gewesen, obgleich in etwas verschiedenem Maße; in 3 dieser Versuche hat sich bei 0° Regeneration ergeben, d. h. die hemmenden Funktionen sind ganz oder teilweise verschwunden. Alkoholische Lösungen von Er-Lecithin haben innerhalb der Versuchszeit nur geringen Einfluß gehabt (Versuch 28). Er-Lecithin,

den gefällten Globulinen zugesetzt, hat jedoch die Umbildungstendenz vermehrt (Versuch 29). In allen Fällen, wo Er-Lecithin in alkoholischer Lösung zugesetzt worden ist, hat die Globulinfraktion eine erheblich stärkere eigenhämolytische Fähigkeit als gewöhnliche Globulinfraktionen gehabt, Er-Lecithin, in destilliertem Wasser gelöst, hat diese Wirkung nicht hervorgerufen. Das Präparat an sich hat keine hämolytische Fähigkeit besessen und die Hämolyse ungespaltenen Komplementes nicht vermehrt. Mit diesem Lecithinpräparate habe ich also ganz andere Ergebnisse als diejenigen, welche Cruikshank und Mackie¹⁾ bei Verwendung eines anderen Lecithinpräparates, erhalten. In ihren Versuchen wurde nämlich die Eigenhämolyse der Albuminfraktionen erheblich vermehrt. Das von mir nach Noguchi hergestellte Präparat hat eine Zwischenstellung eingenommen, insofern bald die Eigenhämolyse der Albumin-, bald diejenige der Globulinfraktionen vermehrt gewesen ist; die Wirkung ist jedoch nie so ausgesprochen gewesen wie in betreff des Er-Lecithins.

Versuch 29. 8 ccm Meerschweinchenserum wird in Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten, der Niederschlag in 4 ccm destilliertem Wasser aufgeschwemmt, und zu je $\frac{1}{2}$ ccm dieser Aufschwemmung wird hinzugesetzt:

- 1) 0,5 ccm dest. Wasser, worin 0,00125 g Er-Lecithin
- 2) 9,5 " " "
- 3) 0,5 " 1,8-proz. "NaCl-Lösung, "worin" 0,00125 g Er-Lecithin
- 4) 9,5 " 0,9 " " " " "
- 5) 0,5 " 1,8 " " " " "
- 6) 9,5 " 0,9 " " " " "

Alle Lösungen stehen $2\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, die zwei ersten werden dann mit NaCl isotonisch gemacht.

5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung ccm	0,9-proz. NaCl ccm	E $\frac{1}{10}$ ccm	M $\frac{1}{1}$ ccm	E und M gleichzeitig						E 1 Std. nach M					
				M						M					
				No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
0,25	ad 1,25	0,2	0,1	100	100	10	80	100	100	100	100	100	100	100	100
"	"	"	0,07	"	"	20	90	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	0,05	"	"	40	100	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	0,03	"	"	80	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	0,02	"	"	"	"	"	"	"	"	90	"	"	"
"	"	"	0,01	90	90	70	90	"	"	90	90	80	90	"	90

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912, p. 414.

Verschiedene Lipoide (Lecithin und oleinsaures Natron) haben also einen Einfluß auf die Tendenz der Globuline, die Brandsche Modifikation zu bilden.

Quantitative Verhältnisse. Thomsen und ich fanden nie so gute Wirkung von Globulinfractionen nach der Bildung hemmender Funktionen wie vorher, wenn eben auch durch späteren Zusatz von Albumin sich Hämolyse ergab, und erachteten deshalb solche Globuline für quantitative Versuche ungeeignet. Auch aus anderer Ursache kann man solche Globuline nicht verwenden. So ist die Zeit, welche bis zum Albuminzusatz verstreicht, keineswegs immer gleichgültig; freilich wird man doch in den meisten Fällen dieselbe Hämolyse erhalten, ob das Albumin ein wenig früher oder später hinzugesetzt wird, wenn nur die Blutkörperchen mit der Globulinlösung etwa 5—10 Minuten bei 37° gestanden hatten.

Versuch 30. Meerschweinchenserum in Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst und 4 Stunden bei 37° aufbewahrt. Titer $\alpha\alpha$ M + E sofort nach der Spaltung 0,016 ccm.

10-fach sensibilisierte, 5-proz. Hammelblutaufschwemmung ccm	M-Menge ccm	0,9-proz. NaCl ccm	0,02 ccm E			
			sofort	nach 15 Min.	nach 30 Min.	nach 60 Min.
0,25	0,1	ad 1,25	10	100	100	100
"	0,07	"	12	"	"	"
"	0,05	"	20	"	"	95
"	0,03	"	"	90	90	90
"	0,02	"	25	80	80	80
"	0,01	"	20	60	50	50

Wie gering der Unterschied der Zeit in gewissen Fällen sein mag, um großen Unterschied in der Hämolyse hervorzurufen, ist aus Versuch 31 ersichtlich. Es handelt sich hier nur um einen Unterschied von etwa 1 Minute, und zwar bei 18°.

Versuch 31. Meerschweinchenserum in Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst und 3 Stunden bei 37° belassen. E aus 10-fach verdünntem Serum, mit CO_2 gespalten, hat keine Eigenhämolyse. In allen Röhrchen 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte Hammelblutaufschwemmung, 0,05 ccm E und 0,1 ccm M.

Der Versuch 3mal mit demselben Resultat wiederholt.

Bei Zusatz von E	Hämolyse
unmittelbar nach der Blutaufschwemmung	100
„ vor „ „	10

Bisweilen ist die Hämolyse am stärksten, wenn das Albumin schnell (nach 10–20 Minuten) hinzugesetzt wird, bisweilen aber dauert es längere Zeit, jedoch nur selten mehr als 1 Stunde, bis der inverse Typ verschwunden ist.

Wenn man mit umgebildeten Globulinen arbeitet, spielt ferner die Ambozeptormenge bisweilen eine nicht geringe Rolle, am wenigsten, wenn die Globuline beträchtlich umgebildet sind. In solchen Fällen ruft auch sehr starke Sensibilisierung (50-fache) bei gleichzeitigem Zusatz der Fraktionen Hämolyse nicht hervor, und bei späterem Zusatz von Albumin erhält man bei Vermehrung der Ambozeptormenge bessere Hämolyse nicht; nur ist die minimale Ambozeptormenge, welche für totale Hämolyse erforderlich ist, größer als beim Arbeiten mit nicht umgebildeten Globulinen, jedoch sind am häufigsten 5 Einheiten hinreichend. Die Größe des Intervalles, welches zwischen dem Zusatz von Albumin und von Globulin erforderlich ist, mag mit größeren Ambozeptormengen abgekürzt werden. Auffällig mag hingegen die Wirkung einer Ambozeptormehrung sein, wenn man wenig umgebildete Globuline und gleichzeitigen Zusatz der Fraktionen verwendet. Während der Aufbewahrung einer umbildungsfähigen Globulinfraktion lassen sich auf diese Weise die leichteren Stufen der vorschreitenden Umbildung nachweisen.

Versuch 32. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung mit den angegebenen Ambozeptormengen sensibilisiert, und 0,03 ccm E (aus 10-fach verdünntem Meerschweinchenserum), das keine Eigenhämolyse gibt. M aus 5-fach verdünntem Meerschweinchenserum, $\frac{1}{4}$ gelöst und bei 16° hingestellt. E überall sofort zugesetzt.

M-Menge ccm	M sogleich untersucht						M 1 Stunde gestanden					
	Anzahl der Ambozeptor-einheiten						Anzahl der Ambozeptor-einheiten					
	1	2	5	10	20	50	1	2	5	10	20	50
0,1	30	100	100	100	100	100	20	100	100	100	100	100
0,07	40	„	„	„	„	„	10	90	„	„	„	„
0,05	„	„	„	„	„	„	„	80	„	„	„	„
0,03	20	„	„	„	„	„	6	70	90	„	„	„
0,02	10	90	„	„	„	„	0	50	70	90	90	90
0,01	6	80	90	90	90	90						

M-Menge ccm	M 2 Stunden gestanden						M 3 Stunden gestanden					
	Anzahl der Ambozeptor-einheiten						Anzahl der Ambozeptor-einheiten					
	1	2	5	10	20	50	1	2	5	10	20	50
0,1	0	70	100	100	100	100	0	0	10	20	50	90
0,07	0	40	"	"	"	"	0	0	50	70	100	100
0,05	0	20	80	"	"	"	0	0	90	100	"	"
0,03	0	6	60	"	"	"	0	0	70	"	"	"
0,02	0	0	50	90	80	90	0	0	50	90	90	90
0,01	0	0	40	60	60	70	0	0	30	40	45	70

Einen ähnlichen Einfluß übt die Ambozeptormenge auf die Hemmung, welche die Brandsche Modifikation auf genuines Komplement bewirkt. Wird Bindung angewendet, so ist eine Mehrung der Ambozeptormenge bis 50 Einheiten in der Regel ohne Bedeutung. Wenn dagegen die Blutkörperchen sofort zugesetzt werden, mag die Hämolyse, wenn das verwendete Globulin nicht zu stark hemmend ist, mit steigender Ambozeptormenge beträchtlich wachsen, was ja übrigens auch für eine Sonderung zwischen Mittelstückfunktion und hemmender Funktion spricht. Die Ursache ist wohl größtenteils die durch die größere Ambozeptormenge erhöhte Hämolysegeschwindigkeit und dadurch gekürzte Bindungszeit.

Versuch 33. M aus 5-fach verdünntem Meerschweinchenserum gewonnen, $\frac{1}{1}$ gelöst und 1 Stunde bei 37° belassen. Komplementtiter 0,015 ccm.

5-proz. Hammelblutaufschwemmung, mit angef. Ambozeptor sensibilisiert ccm	$\frac{1}{10}$ Meer-schwein-chen-komplement ccm	0,9-proz. NaCl ccm	M ccm	Ambozeptoreinheiten					
				1	2	4	8	16	32
0,25	0,15	0,80	0,05	0	0	10	16	40	85
"	"	0,82	0,03	0	30	40	50	80	100
"	"	0,83	0,02	20	50	70	90	100	"
"	"	0,84	0,01	60	70	90	100	"	"

Eine Vermehrung der Albuminmenge hat dagegen in meinen Versuchen keine deutliche Wirkung gehabt, insofern die verwendeten Dosen nicht zu sehr hämolytisch waren; nur ausnahmsweise hat ein umgebildetes Globulin mehr Endstück als das unveränderte erfordert (vgl. unten p. 93).

6*

Etwas andere Ergebnisse erhält man mit Globulinen, die man mittels Dialyse oder nach der Sachs-Altmannschen Methode ausfällt. Ebenso wie Braun¹⁾ habe auch ich gefunden, daß die durch Dialyse erhaltenen Globuline sehr leicht umgebildet werden und sich in allem Wesentlichen wie mit CO₂ in 5mal verdünntem Serum niedergeschlagene Globuline verhalten. Die von Sachs-Altmann angegebene Methode erlaubt eine größere Variation in der Technik. Nach der Originalangabe wird 0,5 ccm Serum und 4,1 ccm n/300 oder n/250 HCl verdünnt und 1 Stunde bei Zimmertemperatur hingestellt, dann zentrifugiert und der Flüssigkeit 0,4 ccm n/30 resp. n/25 NaOH, in 10-proz. NaCl-Lösung gelöst, hinzugesetzt. Die optimale Säurekonzentration soll angeblich etwas verschieden sein. Die auf diese Weise erhaltene Globuline bilden leicht hemmende Funktionen (Versuch 34). Weder durch Aenderung des Volumens bei konstanter Säuremenge, durch Aenderung der Säuremenge bei konstantem Volumen, noch durch Aenderung beider Faktoren gleichzeitig habe ich Globuline erhalten, welche geringe Neigung zur Umbildung zeigten (Versuch 34 und 35).

Versuch 34. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,03 ccm E aus No. 1, das allein Hämolyse 12 hervorruft. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. 2 Proben:

1) 0,5 ccm Meerschweinchenserum + 1,6 ccm n/100 HCl + 2,5 ccm dest. Wasser

2) " " " " + " " " " + 7,0 " " "

werden 1 Stunde bei 18° hingestellt und dann zentrifugiert, M 1/2, gelöst, E No. 1 neutralisiert. Gleich nach der Lösung keine Brandsche Modifikation in irgendeiner der M-Lösungen, welche dann 2 Stunden bei 37° belassen werden.

M-Menge ccm	E sofort		E 1/2 Std. nach M	
	M ₁	M ₂	M ₁	M ₂
0,07	10	16	100	100
0,05	16	20	"	"
0,03	20	25	"	"
0,02	"	"	"	"
0,01	"	20	90	90

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, p. 65.

Versuch 35. Technik wie im vorigen. 4 Proben:

- 1) 1 ccm Meerschweinchenserum + 3,2 ccm n_{100} HCl + 5 ccm dest. Wasser
 2) 1 " " + 3,0 " " + 5,2 " " "
 3) 1 " " + 2,8 " " + 5,4 " " "
 4) 1 " " + 2,6 " " + 5,6 " " "

werden 1 Stunde bei 18° aufbewahrt, dann zentrifugiert, M $\frac{1}{1}$ gelöst, E isotonisch und neutral gemacht.

E + M $\bar{a}\bar{a}$ ccm	Sofort untersucht. E und M gleichzeitig			
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
0,03	100	100	100	100
0,025	"	"	"	90
0,02	"	"	"	80
0,016	"	"	"	60
0,013	90	90	80	40
0,01	80	80	70	20

E + M $\bar{a}\bar{a}$ ccm	M-Lösungen 1 Stunde bei 37°							
	E sofort				E $\frac{1}{2}$ Std. nach M			
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
0,05	0	0	0	0	100	100	100	100
0,03	0	0	0	0	90	80	70	60
0,02	0	0	0	0	90	80	70	60
0,01	0	0	0	0	30	20	20	10

Auxilytische Funktionen.

Daß verschiedene Substanzen (Funktionen) sowohl in Normal- als in Immunsereen einen fördernden Einfluß auf die Hämolyse ausüben können, wird wiederholt in der Literatur erwähnt. In manchen Fällen handelt es sich nur um eine Vermehrung der Reaktionsgeschwindigkeit, in anderen jedoch auch um eine tatsächliche Vermehrung der Hämolyse. Unter mehr oder weniger chemisch definierten Substanzen, welche die Hämolyse fördern können, können Seifen und andere Lipide erwähnt werden (die Wirkung ist meist nur in bestimmten Dosen vorhanden), Säure [Rondoni¹⁾], Magnesiumsalze [Cernovodéanu und Henri²⁾], Blutkörperchen, in destilliertem Wasser gelöst [Liefmann und Cohn³⁾], Hämoglobin [Traube und Goldenthal⁴⁾]. Traube⁵⁾ erörtert die Wirkung der Lipide in ihrer Neigung, sich in der Lipidmembran der Blutkörperchen zu sammeln.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, p. 575.

2) Compt. rend. Soc. Biol., T. 60, 1906, p. 571.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, 1911, p. 58.

4) Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 390.

5) Ebenda, p. 371; Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 1911, p. 246.

Ein hämolysebefördernder, auf den Ambozeptor wirkender Einfluß gewisser Kaninchenimmunsera ist von Friedberger und Moreschi¹⁾ und von Friedberger und Bezzola²⁾ beschrieben worden. Diese fanden, daß Serum von Kaninchen, welche mit Ziegenserum immunisiert wurden, das Vermögen hatte, die Hämolysen, sogar sehr erheblich zu beschleunigen, wenn der Ambozeptor von Ziegen stammte, und zugleich zu bewirken, daß Ambozeptormengen, die unter dem Titer lagen, totale Hämolysen hervorriefen. Die Wirkung war am meisten ausgesprochen, wenn die überschüssige, nicht gebundene Menge Ambozeptorserum durch Zentrifugieren entfernt wurde; geschah dies nicht, so konnte die fördernde Wirkung ausbleiben, ja es konnte sogar eine Hemmung eintreten. Eine entsprechende, nur schwächere Wirkung hat nach Altmann³⁾ auch normales Kaninchen-serum. Die Wirkung des Komplementes war in keinem dieser Versuche erhöht. Als die Ursache dieser beobachteten Wirkung vermuteten Friedberger und Moreschi⁴⁾ eine Kettenbindung, d. h. das verwendete Antiziegen-Kaninchenserum (als Antikörper) bewirkte mit dem Ziegenambozeptor (als Antigen) eine Komplementbindung, und wenn der Ambozeptor im voraus an die Blutkörperchen gebunden wäre, würde bei dieser Komplementbindung das Komplement an die Blutkörperchen gebunden, und die Hämolysen würde vermehrt; wenn sich dagegen in der Flüssigkeit freies Ziegenserum fände, könnte auch an diesem eine Komplementbindung und dadurch eine Komplementablenkung stattfinden.

Eine Vermehrung der Komplementwirkung ist dagegen von Manwaring⁵⁾, der in einer Reihe von Arbeiten den Einfluß erhitzter Sera studiert hat, beschrieben worden. Noguchi⁶⁾, der ebenfalls in solchen Seren eine fördernde Wirkung fand, vermutet, daß es sich um eine Wirkung von Lipoiden, die durch das Erhitzen frei wurden, handle, weil solche Eigenschaften sich in Seren, welche vor der Erwärmung mit Aether oder Alkohol behandelt waren, nicht vorfinden. Unter anderen Untersuchern, welche in Normalseren hämolysenfördernde Eigenschaften gefunden haben, können Bordet und Gay⁷⁾, Cernovodéanu und Henri⁸⁾ und Fränkel⁹⁾ erwähnt werden.

Die Wirkung, welche verschiedene Sera auf das von mir verwendete hämolysische System ausüben, ist überaus variierend. Einige fördern, wenn sie frisch sind, hemmen, wenn inaktiviert, andere umgekehrt, einige haben wirksame Albumine, andere wirksame Globuline, einige haben gleich

- 1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, 1907, p. 346.
- 2) Ebenda Bd. 46, 1908, p. 412.
- 3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, 1910, p. 24.
- 4) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, 1907, p. 346.
- 5) U. a. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 42, p. 75, und Bd. 43, p. 820; Journ. of inf. Dis., Vol. 5, p. 55 u. 67.
- 6) Journ. of exp. Med., Vol. 8, 1906, p. 726.
- 7) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 22, 1908, p. 625.
- 8) Compt. rend. Soc. Biol., T. 58, 1905, p. 855.
- 9) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 10, 1911, p. 388.

wirkende Funktionen in Albuminen und in Globulinen, andere verschiedene. Diese Funktionen variieren weit mehr an Stärke als die Komplementfunktion.

Von einer speziellen „auxilytischen“ Funktion wird man selbstverständlich mit Sicherheit nur dann sprechen können, wenn das hinzugesetzte Serum allein keine komplementäre Funktion besitzt. Meerschweinchenserum, durch Erhitzen inaktiviert, erfüllt diese Forderung und kann öfters einige auxilytische Wirkung ausüben.

Versuch 36.

5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung ccm	Meerschweinchenkomplement $\frac{1}{10}$ ccm	0,9-proz. NaCl ccm	Meerschweinchenserum auf 55° erhitzt		
			Menge ccm	20 Min.	30 Min.
0,5	0,1	0,9	1,0	100	90
„	„	1,4	0,5	95	70
„	„	1,7	0,2	70	60
„	„	1,8	0,1	60	„
„	„	1,9	0	„	„
„	„	1,0	1,0	0	0

Unter gewissen Verhältnissen, besonders in großen Mengen, kann erhitztes Serum jedoch hemmend wirken, so wie früher bekannt („Komplementoid“); die Ursache dieser Erscheinung wäre [Bordet¹⁾, Traube²⁾] ausschließlich physischer Natur. In eigenen Versuchen habe ich Hemmung nur gesehen, wenn die hinzugesetzte Serummenge die Hälfte des Totalvolumens überstieg.

Ebensowenig wie man die vermehrte Hämolyse, welche eine Vermehrung der Komplementmenge bedingt, eine eigentliche „auxilytische“ Wirkung nennt, wird man die Wirkung von „Endstück“- und „Mittelstück“-Funktionen als eine solche bezeichnen. Denn Komplement, d. h. „Mittelstück“ + „Endstück“ und Ambozeptor sind ja notwendige Faktoren der komplexen Hämolyse. Inwieweit die Fraktionen außer den Hämolysinen auch Auxilysine enthalten, läßt sich schwerlich beurteilen, wenn die Fraktionen nicht inaktiviert sind. Daß

1) Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 1; Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 12, 1912, p. 601.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 1911, p. 246.

sie die Hämolyse verstärken können, ist sicher (cf. Versuch 37); weil aber die Funktionen nicht im isolierten Zustande zu erhalten sind, ist aus den Versuchen nicht ersichtlich, ob eine Verstärkung der Hämolyse ausschließlich den Komplementfraktionen zu verdanken ist, oder ob auch andere Funktionen mitwirken. Landsteiner und Roch¹⁾ unter anderen diskutieren die Möglichkeit, die Verstärkung sei der Eigenhämolyse der Fraktionen zu verdanken, stellen sich aber dieser Erklärung, die gewiß auch nicht befriedigend ist, recht ablehnend gegenüber. Mehrere Momente sprechen meines Erachtens im Gegenteil dafür, daß sich in Meerschweinchenserum (und in anderen Seren) Funktionen vorfinden, die von den als Endstück und als Mittelstück bezeichneten Funktionen verschieden sind, auf die Hämolyse fördernd wirken und deshalb auch „auxilytisch“ genannt werden mögen. So unter anderem, daß sich zwischen Endstückwirkung und auxilytischer Wirkung eines Albumins kein Parallelismus zu ergeben braucht (Versuch 38); weiter, daß in inaktivierten Albuminen, welche keine Endstückfunktion oder eigenhämolytische Fähigkeit besitzen, oft eine sogar nicht unbedeutende auxilytische Wirkung nachgewiesen werden kann. Daß die in den inaktivierten Albuminen nachgewiesene auxilytische Funktion sich auch in den nicht inaktivierten Albuminen vorfindet und nicht erst durch das Erhitzen entsteht, scheint mir wahrscheinlich, wenn man die Wirkung verschieden lange Zeit erhitzter Albumine untersucht. Am häufigsten ergibt sich während der ersten Minuten (bei 55—56°) eine geringe Schwächung der auxilytischen Funktion, die sich dann während der weiteren Inaktivierung beinahe konstant erhält, in anderen Versuchen sind solche Schwächungen nicht vorhanden gewesen (Versuch 40). Ein solcher Verlauf wäre nicht zu erwarten, wenn die auxilytische Funktion erst während der Inaktivierung entstände. Die auxilytische Funktion ist individuell recht verschieden (Versuch 39), wird durch größere Ambozeptormengen verstärkt (Versuch 41) und findet sich auch in den Globulinen, für gewöhnlich jedoch nur in geringem Maße. Ein Parallelismus zwischen eigenhämolytischer und auxilytischer Wirkung

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 14, 1912. p. 14.

der Globuline hat sich nicht ergeben, jedoch sind nur solche Globuline deutlich auxilytisch gewesen, die eigenhämolytisch waren.

Versuch 37. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Frisches Meerschweinchenserum in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{10}$ gelöst.

Meersch.- Komplement ccm	Ohne Zusatz	Zusatz- menge ccm	Von nicht erwärmten		Von $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° erwärmten	
			E	M	E	M
0,01	40	0,1	100	100	100	90
"	35	0,07	"	"	100	90
"	30	0,05	"	"	90	80
"	35	0,03	"	"	90	70
"	35	0,02	"	"	80	60
"	35	0,01	"	"	70	45
0,007	16	0,05	"	50	.	.
0,005	6	"	"	20	.	.
0,003	0	"	90	6	.	.
0,003	0	"	80	0	.	.
0,001	0	"	45	0	.	.

Eigenhämolyse nach 20 Stunden:

E		M	
0,2	30	0,2	70
0,1	20	0,1	10
0,07	6	0,07	0
0,05	0		

Die inaktivierten Fraktionen haben keine eigenhämolytische Fähigkeit.

Versuch 38. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. 2 Meerschweinchensera — Titer für beide 0,015 ccm — mit CO_2 $\frac{1}{10}$ verdünnt, gespalten. E-Titer für beide (mit 0,02 ccm M_1) = 0,015 ccm.

10-fach sensib. 5-proz. Hammel- blutaufschw. ccm	0,9-proz. NaCl ccm	Meersch.- Kompl. $\frac{1}{10}$ ccm	E $\frac{1}{10}$ ccm	E nicht erwärmt		E $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° erwärmt	
				No. 1	No. 2	No. 1	No. 2
0,25	0	0,07	1,0	100	95	100	65
"	0,23	"	0,7	"	85	100	60
"	0,43	"	0,5	"	70	95	55
"	0,63	"	0,3	90	50	85	40
"	0,73	"	0,2	80	45	70	35
"	0,83	"	0,1	75	40	60	35
"	0,93	"	0	35	35	35	35

Versuch 39. Volumen 2,5 ccm. In allen Gläsern 0,5 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm. 8 Meerschweinchensera werden mit CO₂ in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten.

Meerschw.-Serum No.	Komplement-titer ccm	E-Titer mit 0,03 ccm M bestimmt	Eigenhämolysse	
			0,1 ccm	0,05 ccm
1	0,016	0,02	25	10
2	0,02	0,02	8	6
3	0,02	0,02	40	25
4	0,025	0,025	30	6
5	0,025	0,03	6	0
6	0,025	0,025	50	16
7	0,025	0,025	30	8
8	0,03	0,03	20	10

Komplementmenge (Mischung von 8 Sera) ccm	E-Menge ccm	Hämolysse mit E No.							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0,01	0,1	70	100	100	100	90	95	80	100
"	0,07	70	"	90	100	75	95	70	"
"	0,05	60	"	85	90	55	90	55	"
"	0,03	45	95	75	80	35	80	40	"
"	0,02	35	75	50	70	30	70	30	90
"	0,01	25	45	30	55	25	55	25	70

0,01 ccm Komplement allein Hämolysse 25.

Versuch 40. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Meerschweinchenserum in der Verdünnung $\frac{1}{2}$ mit CO₂ gespalten, E auf 54,9° erwärmt. Proben zu den angeführten Zeiten herausgenommen und sogleich abgekühlt.

Kopl.-Menge ccm	E-Menge ccm	E nicht erwärmt	E erwärmt									
			0'	2'	4'	6'	10'	20'	30'	45'	60'	120'
0,005	0,1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
"	0,05	"	"	80	70	70	70	70	70	70	70	60
"	0,02	"	"	80	50	50	45	45	50	50	50	40
"	0,01	90	80	50	50	45	45	50	50	50	50	40

0,005 ccm Komplement allein Hämolysse 30.

0,1 ccm nicht erwärmtes E Hämolysse 6, alle anderen Dosen 0.

Versuch 41. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. E in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gewonnen.

Meersch.- Komplement ccm	E $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° erwärmt ccm	Ambozeptoreinheiten		
		2	5	10
0,01	0,1	100	100	100
"	0,07	90	"	"
"	0,05	75	90	"
"	0,03	65	80	95
"	0,02	45	70	85
"	0,01	40	55	70
"	0	30	30	30

In vielen Punkten erinnert diese auxilytische Fähigkeit an die von Ritz¹⁾, Sachs und Omorokow²⁾ u. a. beschriebene sogenannte „dritte Serumkomponente“ — eine thermostabile, Cobragift aktivierende Funktion, die sich sowohl in den Globulinen als auch in den Albuminen, jedoch in wechselnder Menge vorfindet. Ist diese dritte Komponente, wie die erwähnten Verfasser vermuten, ein notwendiger Bestandteil des Komplementes und wiederum mit der auxilytischen Funktion identisch, so darf diese Benennung nicht mehr benutzt werden. Uebrigens ist ja der Ausdruck auxilytische Funktion nicht besonders gut, denn auxilytisch wird ein jeder Stoff, der bessere Bedingungen für die Hämolyse herstellen kann, wirken, in konzentrierten Salzlösungen z. B. destilliertes Wasser, in sauren Lösungen Alkalien. Wahrscheinlich spielen bei der hier besprochenen Auxilyse Lipide eine bedeutende (wenn nicht die einzige) Rolle; erstens finden sie sich in wechselnder Menge im Serum, zweitens verliert das Serum die auxilytische Fähigkeit durch eine Behandlung nach Friedemann und Herzfeld³⁾, und die extrahierten Lipide können auxilytisch wirken.

Inaktivierung.

Die große Labilität ist eine der charakteristischsten und der zuerst bekannten Eigenschaften des Komplementes. Auf der durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen bei 56° eintretenden Inaktivierung ist die Trennung zwischen Ambozeptor und Komplement ursprünglich begründet. Erhitzen ist auch

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 13, 1912, p. 62.

2) Ebenda Bd. 11, 1911, p. 710.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1911, p. 2106.

stets die am häufigsten verwendete Inaktivierungsmethode geblieben. Die Komplemente der verschiedenen Tierarten besitzen jedoch nicht dieselbe Thermoresistenz. Thermostabile, d. h. durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 56° nicht inaktivierbare Komplemente sind mehrmals beschrieben, zuerst von Ehrlich und Morgenroth¹⁾, und diese Verhältnisse wurden als Argumente für die Existenz verschiedener Komplemente benutzt. In bezug auf das Meerschweinchenkomplement sind die meisten Autoren der Meinung, die totale Destruktion erscheine bei $\frac{1}{2}$ -ständigem Erhitzen auf 56° . Noguchi und Bronfenbrenner²⁾ geben jedoch an, das Komplement werde dadurch nicht total, sondern nur auf etwa $\frac{1}{30}$ — $\frac{1}{50}$ seines ursprünglichen Wertes destruiert. Von Untersuchungen über Inaktivierungszeit, Temperatur und Verlauf können die von Manwaring³⁾, Famulener und Madsen⁴⁾, Noguchi und Bronfenbrenner²⁾ zitiert werden. Den letzten Verfassern nach ist die Abschwächung nicht gleichmäßig, sondern verläuft in Sprüngen, verschiedene Sera sind einander nicht gleich in bezug auf Verlauf und schließlichen Destruktionsgrad. Ueber die Thermoresistenz der Fraktionen sind die Angaben variierend. Ferrata⁵⁾ beschrieb das Endstück als labil, das Mittelstück als thermostabil, Brand⁶⁾ und allen späteren Untersuchern gemäß sind jedoch beide Funktionen, wenn sie jede für sich erwärmt werden, thermostabil. Von mehreren Seiten [zuerst Friedemann⁷⁾, später Marks⁸⁾, Mutermilch⁹⁾ u. a.] wird jedoch in der jüngsten Zeit behauptet, das Mittelstück sei im ungespaltenen Serum resistenter als in den isolierten Globulinen.

In meinen Versuchen hat ungespaltenes Meerschweinchen-serum nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Erhitzen auf 56° nie nachweisbare Komplementfähigkeit gehabt, selbst Dosen, die mehr als 100-mal größer als der ursprüngliche Titer waren, haben Hämolyse nicht hervorrufen können.

Versuch 42. Volumen 1,25 ccm. Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, mit 2, 10 und 20 Ambozeptoreinheiten sensibilisiert. Frisches Meerschweinchen-serum (Titer 0,007 ccm) im Kölbchen von Jenaer Glase $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt. Mengen bis 1 ccm rufen dann keine Hämolyse hervor, auch nicht in einer Parallel-

- 1) Berl. klin. Wochenschr., 1899, p. 481.
- 2) Journ. of exp. Med., Vol. 13, 1911, No. 1 u. 2.
- 3) Transact. Chicago Path. Soc., Vol. 6, 1906, p. 351.
- 4) Biochem. Zeitschr.. Bd. 11, 1908, p. 186.
- 5) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.
- 6) Ebenda 1907, p. 1075.
- 7) Zeitschr. f. Hyg.. Bd. 67, 1910, Heft 2.
- 8) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 18.
- 9) Compt. rend. Soc. Biol., T. 70, 1911, p. 577.

reihe, wo zu jedem Röhrchen 1,25 ccm Kochsalzlösung hinzugesetzt wurde [um die von Bordet und Gay¹⁾ nachgewiesene Hemmung starker Serumkonzentration zu vermeiden].

Schwieriger ist anzugeben, eine wie hochgradige Destruktion das Komplement durch eine kürzere Erwärmung erleidet, denn in solchen Fällen spielt die Ambozeptormenge eine große Rolle, ein Verhältnis, das ich nie erwähnt gesehen habe (Versuch 43). Diese Erscheinung habe ich ganz konstant in allen von mir untersuchten Seren gefunden; in der Regel ist der Unterschied am größten bei Seren, die nur kurze Zeit erwärmt gewesen.

Versuch 43. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,0008 ccm. Frisches Meerschweinenserum (Titer mit 3 und mit 30 Ambozeptoreinheiten = 0,02 ccm) auf 56° verschieden lange Zeit erwärmt und in der Menge von 0,1 ccm untersucht.

Ambozeptor- einheiten	Komplement auf 56° erwärmt					
	2'	4'	6'	8'	10'	30'
3	60	20	6	0	0	0
30	100	100	45	25	12	0

Kurze Zeit erwärmte Sera verhalten sich also wie aufbewahrte ungespaltene Sera und wie rekonstruierte Komplemente, deren Globuline ein wenig umgebildet sind, einer Aenderung der Ambozeptormenge gegenüber.

Der Eindruck, den man von dem Verlaufe der Destruktion erhält, wird daher von der benützten Menge Ambozeptor abhängig sein; so mag der Titer für 2 Minuten erwärmtes Serum mit 25 Ambozeptoreinheiten 4—5mal größer als der mit 2 Einheiten bestimmte sein. Was die Thermoresistenz der Komplementfraktionen anlangt, so werden nach meinen Versuchen beide Fraktionen beim Erhitzen schnell destruiert, das Endstück bisweilen etwas schneller als das Mittelstück. Hier muß jedoch an das schon vorher (p. 82) besprochene Verhältnis erinnert werden, daß Globulinlösungen, welche leicht Brandische Modifikation bilden, durch kurzdauerndes Erhitzen auf

1) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 22, 1908, p. 625.

56° umgebildet werden und so eine Destruktion vorgetäuscht wird. Diese Tatsache muß sicher die Schuld daran sein, daß mehrere Autoren, z. B. Guggenheimer¹⁾, behaupten, das Mittelstück sei noch labiler als das Endstück. Werden weniger umbildungsfähige Globulinlösungen verwendet, so findet sich für gewöhnlich kein markanter Unterschied. In diesen Globulinlösungen erscheint jedoch öfters eine eigentümliche, von der Brand'schen Modifikation verschiedene Veränderung (Versuch 45), indem eine Vermehrung der Albuminmenge in diesen Fällen die Hämolyse vergrößert.

Versuch 44. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Frisches Meerschweinchenserum wird in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten, M $\frac{1}{10}$ gelöst. Beide Fraktionen auf 55,5° erwärmt, Proben nach 0, 2, 4, 6, 10, 20 und 30 Minuten herausgenommen und sofort im Eiswasser abgekühlt. M mit 0,04 ccm E, E mit 0,04 ccm M untersucht. Beide Dosen geben keine Eigenhämolyse.

Menge ccm	M erhitzt							E erhitzt					
	0'	2'	4'	6'	10'	20'	30'	0'	2'	4'	6'	10'	20'
0,1	100	100	100	95	75	35	0	100	100	95	70	45	0
0,07	"	"	"	80	55	12	0	"	95	80	50	16	0
0,05	"	"	85	60	30	0	0	"	85	60	30	2	0
0,03	"	90	65	40	14	0	0	90	70	40	8	0	0
0,02	90	70	45	18	2	0	0	70	45	20	0	0	0
0,01	70	50	25	4	0	0	0	50	25	4	0	0	0

Versuch 45. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. 10-fach sensibilisierte Hammelblutaufschwemmung. Frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,013 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten. Titer sofort auf E + M 0,013 ccm. M $\frac{1}{10}$ gelöst, auf 56° 2, 6 und 30 Minuten erhitzt.

M-Menge ccm	M 2' erhitzt				M 6' erhitzt			
	E sofort		E $\frac{1}{10}$ Std. n. M		E sofort		E $\frac{1}{10}$ Std. n. M	
	0,015 E	0,05 E	0,015 E	0,05 E	0,015 E	0,05 E	0,015 E	0,05 E
0,2	100	100	100	100	60	100	60	100
0,1	"	"	"	"	50	100	60	"
0,07	"	"	"	"	"	90	"	"
0,05	"	"	"	"	"	90	50	90
0,03	"	"	"	"	"	"	"	"
0,02	90	90	90	90	20	50	30	60
0,01	50	60	70	70	20	20	20	30

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 393.

30 Minuten erhitztes M erzeugt keine Hämolyse, weder mit 0,015 ccm noch mit 0,05 ccm E, sofort oder nach $\frac{1}{2}$ Stunde zugesetzt. Die benutzten Dosen haben keine eigenhämolytische Fähigkeit.

Während also, wie erwähnt, der Titer unerwärmten Globulins durchgehends von der Albuminmenge recht unabhängig ist, ist dies nicht der Fall mit erwärmten Globulinen; ein ähnliches, aber präformiertes erhöhtes Albuminverlangen findet sich in den Globulinen aus Schaf-, Ziegen- und Rinderserum und darf wohl auf die Anwesenheit hemmender Funktionen bezogen werden. Bei Titrierung von Globulinen wären demnach am besten große Ambozeptor- und große Albuminmengen zu verwenden, dies scheitert in der Praxis daran, daß die Albumine beinahe immer eigenhämolytisch sind und diese Eigenhämolyse mit der Ambozeptormenge steigt. Wider mehrere der in der Literatur erwähnten Versuche (u. a. Marks, l. c.) mag der Einwand gemacht werden, daß die Beobachtungszeit der Kontrollen (Albumin allein) allzu kurz ist, um schließen zu dürfen, die wahrgenommene Hämolyse sei nicht allein eine Vermehrung der Reaktionsgeschwindigkeit der Eigenhämolyse.

Im ungespaltenen Serum soll die Mittelstückfunktion, nach den Angaben mehrerer Autoren, resistenter sein; bis zu einem gewissen Grade vermag ich dem beizustimmen, jedoch besteht, nach meinen Versuchen, kein wesentlicher Unterschied, wenn man aus dem erhitzten Serum die Globuline ausfällt, dagegen bewirkt der Zusatz von Albumin zu ungespaltenem Serum eine recht beträchtliche Vermehrung der Hämolyse. (Versuch 46). Inwieweit die Ursache, wie angegeben, diejenige ist, daß Mittelstück unter diesen Verhältnissen thermostabiler sei, läßt sich nicht sicher beantworten. Nach den Versuchen kommt es mir wahrscheinlich vor, daß in der Tat die Mittelstückfunktion im Serum resistenter als in den isolierten Globulinen sei, jedoch haben beide Komponenten, wie gezeigt, eine oft recht bedeutende auxilytische Fähigkeit, die restierende Spuren von Komplement im Serum oder im Albumin zu evidenter Hämolyse zu aktivieren vermögen. Mit Rücksicht auf die Ausführungen von Noguchi und Bronfenbrenner (l. c.) muß hier erwähnt werden, daß auch Endstück, bei einer Komplementbindungsreaktion gewonnen, diese Wirkung hat. (Versuch 47.)

Versuch 46. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,01 ccm) wird auf 56° erhitzt und Proben nach 2, 4, 6, 10, 20 und 30 Minuten herausgenommen, sofort im Eiswasser abgekühlt. Von jeder Probe wird ein Teil in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. E = 0,04 ccm Endstück (aus $\frac{1}{10}$ verdünntem frischen Serum), das keine Eigenhämolyse hat.

Serum od. Glob.- menge ccm	Serum allein						Serum + E						Globuline + E					
	Serum erhitzt						Serum erhitzt						Serum erhitzt					
	2'	4'	6'	10'	20'	30'	2'	4'	6'	10'	20'	30'	2'	4'	6'	10'	20'	30'
0,2	100	100	90	45	4	0	100	100	100	100	80	40	100	100	100	95	50	14
0,1	"	"	75	25	0	.	"	"	"	90	70	30	"	"	95	75	30	4
0,07	"	80	45	6	.	.	"	"	95	70	50	20	"	"	85	55	16	0
0,05	90	60	20	0	.	.	"	"	90	60	35	6	"	90	70	45	2	.
0,03	70	30	2	.	.	.	"	95	75	45	18	0	"	80	55	25	0	.
0,02	45	16	0	.	.	.	"	80	60	30	4	.	95	60	40	10	.	.
0,01	20	0	90	70	40	18	0	.	75	40	25	0	.	.
0,005	2	80	55	25	2	.	.	45	20	4	.	.	.

Versuch 47. Volumen 25 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,027 ccm mit 3 und mit 30 Ambozeptoreinheiten). E = 1 E-Einheit, aus einer positiven Wassermannschen Reaktion gewonnen, hat keine Eigenhämolyse.

Serummenge ccm	Ambozeptor- einheiten	E	Serum auf 56° erhitzt					
			2'	4'	6'	8'	10'	30'
0,1	3	0	100	16	4	0	0	0
"	30	0	"	60	30	18	12	0
"	30	+	"	100	90	80	80	50

Worauf die Inaktivierung beruht, ist ebenso wie die Natur des Komplementes unbekannt. Nachdem v. Liebermann¹⁾ und Seligmann²⁾ ausfindig gemacht hatten, daß Serum durch Erwärmung alkalischer wird, hat man sich diese vermehrte Alkalinität als die Ursache vorgestellt; das Komplement wird indessen durch Säurezusatz nicht restituiert, und nach Davidsohn³⁾ ändert sich übrigens die Wasserstoffionenkonzentration nicht, wenn die Kohlensäure daran verhindert wird, während des Erwärmens zu entweichen, die Komplementfunktion wird dagegen wie sonst destruiert. Traube⁴⁾ hat nachgewiesen, daß durch Erwärmen die Oberflächenspannung

1) Centralbl. f. Bakt. Orig., Bd. 47, 1908, p. 372.

2) Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, Heft 4.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 5, 1910, p. 182.

4) Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 380.

erniedrigt wird, und daß beim Stehen nach dem Erwärmen die Oberflächenspannung wieder steigt. Gramenitzki¹⁾ hat ausfindig gemacht, daß im Serum, das nur kurz erhitzt ist, beim Stehen auch eine Regeneration des Komplementes eintritt. Inwiefern ein direkter Zusammenhang zwischen diesen zwei Erscheinungen besteht, ist jedoch zweifelhaft, denn Segale²⁾ hat gefunden, daß die Herabminderung der Oberflächenspannung ultramikroskopischen Partikeln, „Mizellen“, zu verdanken ist, und daß die Oberflächenspannung, wenn diese Mizellen wegzentrifugiert werden, ihre ursprüngliche Größe erreicht, die Komplementfunktion dagegen nicht regeneriert wird. Wie bekannt, ergibt sich außer den erwähnten noch eine Reihe Veränderungen im Serum beim Erhitzen, so speziell Fällungsmitteln gegenüber. Durch keine der bisher nachgewiesenen Veränderungen hat sich jedoch die Inaktivierung erklären lassen. Wenn man übrigens das Komplement als einen oder mehrere Stoffe resp. Verbindungen von solchen betrachtet, muß man Bang³⁾ darin recht geben, daß sich kein Beweis dafür findet, dieser oder diese werden in der Tat durch Erwärmen destruiert, Noguchi⁴⁾ z. B. hat ja nachgewiesen, daß durch Erhitzen ein antikomplementär wirkender Stoff freigemacht wird, die Inaktivierung mochte daher anscheinend eine Destruktion sein. Denkt man sich dagegen, die Komplementwirkung beruhe auf einem physikalisch-chemischen Gleichgewichtszustande zwischen sämtlichen oder den meisten Stoffen des Serums, so ist das Komplement nur eine Funktion, und daß diese durch Erhitzen zugrunde geht, darüber herrscht die vollkommenste Einigkeit.

Wie bekannt, wird die Komplementfunktion nicht allein durch Erhitzen, sondern auch durch zahlreiche andere Eingriffe, z. B. beim Lagern, durch Verdünnung mit destilliertem Wasser, durch Schütteln usf. destruiert. Weil die Vermutung geäußert worden, daß es sich bei den beiden ersten Eingriffen um eine Entwicklung der Brandschen Modifikation handelte, habe ich diese Inaktivierungsmethoden etwas näher untersucht.

Bei Aufbewahrung von Komplement wird nach den Untersuchungen Liefmann und Cohns⁵⁾, sowie Mutermilchs⁶⁾ die Mittelstückfunktion zuerst destruiert, während beim Erhitzen das Endstück erst zugrunde geht. Meinen Versuchen nach wird in der Regel das Mittelstück am schnellsten und am stärksten geschwächt, in einzelnen Fällen ist jedoch die Endstückfunktion schneller destruiert worden. (Versuch 48.)

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 38, p. 501, und Bd. 43, 1912, p. 481.

2) Pathologica, A. I., 1911, p. 709.

3) Chemie und Biochemie der Lipoiden, Wiesbaden 1911.

4) Journ. of exp. Med., Vol. 8, 1906, p. 726.

5) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 6, 1911, p. 562 und Bd. 11, 1911, p. 166.

6) Compt. rend. Soc. Biol., T. 71, 1911, No. 35.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Orig. Bd. XXV.

Versuch 48. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Als Komplement 1) frisches Meerschweinchenserum (Titer 0,015 ccm); 2) 14 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Meerschweinchenserum (0,1 ccm Hämolyse 25). Beide Sera in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Titer des frischen Serums ($\bar{a}\bar{a}$ M + E) = 0,015 ccm.

Altes M + E $\bar{a}\bar{a}$ ccm	E		Altes M ccm	+ 0,02 ccm frisches E		Altes E ccm	+ 0,02 ccm frisches M	
	sofort	$\frac{1}{2}$ Std. nach M		E sofort	E $\frac{1}{2}$ Std. nach M		E sofort	E $\frac{1}{2}$ Std. nach M
0,1	30	20	0,2	100	100	0,1	100	100
0,07	16	10	0,1	90	90	0,07	"	"
0,05	10	4	0,07	90	80	0,05	"	"
0,03	6	0	0,05	80	70	0,03	"	"
0,02	0	.	0,03	75	60	0,02	"	"
.	.	.	0,02	70	40	0,01	90	80
.	.	.	0,01	40	20	.	.	.

0,02 ccm frisches E Hämolyse 6, alle anderen Dosen keine Eigenhämolyse.

Wenn oft als sonderbar erwähnt wird, daß Fraktionen älterer Sera miteinander nicht wirken können, dagegen, jede für sich, imstande sind, mit frischen Fraktionen Hämolyse hervorzurufen, so beruht dies gewiß wesentlich darauf, daß man die quantitativen Verhältnisse zu wenig berücksichtigt, und entspricht der Tatsache, daß kleine Mengen frischer Fraktionen nicht mit kleinen, dagegen aber mit großen Dosen der anderen Fraktion Hämolyse hervorrufen können. Völlig lassen sich die Versuchsergebnisse auf diese Weise kaum erklären, unter anderem weil man dabei die Versuche, wo das Serum ungespalten Hämolyse nicht hervorrufen kann, die Fraktionen aber nach der Spaltung solches vermögen (Muttermilch, Liefmann und Cohn, l. c.), nicht verstehen kann. Auch ich habe in einem Falle einen entsprechenden Verlauf gesehen.

Versuch 49. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Als Komplement teils frisches Meerschweinchenserum, teils solches, das 9 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hat. Das alte Serum hat in einer Menge von 0,2 ccm keine Komplementwirkung und wird in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Das frische Serum wird in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Keine der verwendeten Dosen geben Eigenhämolyse.

Altes M ccm	Altes E ccm	E zugesetzt		Altes M ccm	+ 0,02 ccm frisches E 1 Std. nach M	Altes E ccm	+ 0,02 ccm frisches M ccm
		sofort	1 Std. nach M				
0,2	0,1	0	100	0,2	100	0,1	100
0,1	"	0	"	0,1	"	0,07	"
0,07	0,07	0	"	0,07	80	0,05	"
0,05	0,05	0	"	0,05	60	0,03	"
0,03	0,03	0	90	0,03	35	0,02	80
0,02	0,02	0	25	0,02	25	0,01	50
0,01	0,01	0	16	0,01	16	.	.

Als eine Deutung solcher Versuchsergebnisse könnte man sich vorstellen, es ergebe sich bei der Spaltung eine Art Regeneration, oder auch, wie Friedemann (l. c.) vermutet, daß sich beim Stehen Brandsche Modifikation (oder andere hemmende Stoffe) bilde. Eine absolute Stütze der Friedemannschen Vermutung habe ich nicht konstatieren können; wohl ist die Brandsche Modifikation oft sogleich nach der Lösung der Globuline erschienen, eben in Globulinen aus 10-fach verdünntem Serum niedergeschlagen, eben so oft hat sich aber kein Zeichen erwiesen, daß eine solche Modifikation im Serum präformiert gewesen sei, indem weder bei der Prüfung ungespaltenem Serum gegenüber oder mit Endstück die Globuline die für die Brandsche Modifikation charakteristischen Eigenschaften gezeigt haben. Daß Globuline, aus 5-fach verdünntem Serum niedergeschlagen, sofort umgebildet werden, diesem Umstand kann größere Bedeutung kaum beigelegt werden, weil dieselbe Erscheinung sich mit Globulinen aus 5-fach verdünntem, frischem Serum ergeben kann. Die Deutung Friedemanns mag jedoch sehr wohl korrekt sein, es ist ja durchaus nicht ausgeschlossen, daß Verdünnung und CO₂-Durchleitung Umlagerungen im Serum bewirken können, so wie auch die Niederschlagsbedingungen vor und nach der eventuellen Bildung hemmender Stoffe (Funktionen) dieselben nicht zu sein brauchen [vgl. Rozenblatt (l. c.) und Berczeller¹⁾]. Daß die Albuminfraktionen älterer Seren, obgleich als Endstück wirksam, oft hemmende Eigenschaften besitzen, mag auch in dieser Richtung gedeutet werden.

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 44, 1912, p. 193.

Daß die Komplementfunktion durch Verdünnung des Serums mit destilliertem Wasser schwindet, ist zuerst von Buchner und Ortenberger¹⁾ gefunden worden, später ist diese Inaktivierungsmethode von Sachs und Teruuchi (l. c.), Sachs und Altmann (l. c.), Guggenheimer²⁾ u. a. mehr eingehend studiert worden. Die ersten machten ausfindig, daß die Inaktivierung des Meerschweinchenserums von der Verdünnung [am stärksten bei 8—10-facher Verdünnung, vgl. Ritz³⁾, der fand, daß dies auch für die durch Schütteln hervorgerufene Inaktivierung die optimale Verdünnung ist] und vom Alter des Serums abhängig ist. Nur frische Sera (und solche, die in gefrorenem Zustande aufbewahrt waren) wurden destruiert, ältere Sera und Sera, die kurze Zeit auf 51° aufgewärmt waren, dagegen nicht. Später haben Sachs und Altmann (l. c.) gezeigt, daß die Destruktion nur bei einer bestimmten Reaktion eintritt, denn sowohl Säure wie auch Alkali hindert die Destruktion. Reaktivierung gelang sowohl bei Zusatz von Albumin als auch von Globulin. Jüngst hat Sachs daher vermutet, daß in diesen Fällen wirksam sei weder die Endstück- noch die Mittelstückfunktion, sondern die dritte Komponente. Friedemann (l. c.) hat auch über diese Inaktivierungsweise geäußert, es handle sich gewiß um eine Entwicklung der Brandschen Modifikation. In betreff der isolierten Fraktionen hat Guggenheimer (l. c.) gefunden, das Endstück nehme keinen Schaden beim Stehen in verdünnter Kochsalzlösung, dagegen werden dabei Globuline umgebildet. Die Angaben Guggenheimers kann ich in betreff der Albumine völlig bestätigen, in betreff der Globuline habe ich jedoch in verdünnter Kochsalzlösung denselben Unterschied wie in gewöhnlicher 0,9-proz. Kochsalzlösung gefunden (vgl. oben p. 54).

Obgleich sich also in mehreren Punkten bemerkenswerte Ähnlichkeiten zwischen den Bedingungen, unter welchen die Umbildung isolierter Globuline und die Inaktivierung durch Verdünnung des Serums mit destilliertem Wasser stattfinden (Kochsalz- und Wasserstoffionenkonzentration), ergaben, ist es mir doch nicht gelungen, einen bestimmten Beweis zu erhalten, daß es sich in der Tat bei dieser Inaktivierung um eine Entwicklung der Brandschen Modifikation handle; im Gegenteil habe ich in keinem meiner zahlreichen Versuche ein Zeichen solcher Funktionen in den auf solche Weise inaktivierten Sera gefunden. Bei diesem Eingriffe wird nämlich am häufigsten das Endstück besonders destruiert, nur in einzelnen Versuchen ist die Destruktion des Mittelstückes die stärkere gewesen.

1) Arch. f. Hyg., Bd. 10, 1890, p. 149.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 393.

3) Ebenda, Bd. 15, 1912, p. 145.

Versuch 50. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. 4 ccm frisches Meerschweinchen-serum (Titer 0,015 ccm) werden mit 32,8 ccm destilliertem Wasser verdünnt und 1 Stunde bei 37° belassen. Zu 9,2 ccm der Verdünnung wird 0,8 ccm 10-proz. NaCl-Lösung hinzugesetzt, der Rest mit CO₂ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst (M₁). Eine unbehandelte Portion desselben Serums wird in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst (M₂). Keine der Fraktionen gibt in den benutzten Dosen Eigenhämolyse.

Serum $\frac{1}{10}$ ver- dünnt, 1 Std. bei 37° ungespalten ccm	Serum allein	Serum + 0,02 ccm E ₂	Serum + 0,02 ccm M ₂	E + M E ₂ Menge ccm	E ₁ + M ₁	E ₂ + M ₂
1,0	100	100	100	0,1	100	100
0,7	90	"	"	0,07	90	"
0,5	50	"	80	0,05	70	"
0,3	30	"	45	0,03	40	"
0,2	10	"	25	0,02	20	"
0,1	0	"	10	0,01	0	90

M ₂ ccm	E- Menge ccm	E ₁	E ₂	E ₂ ccm	M- Menge ccm	E sofort		E 1 Std. n. M	
						M ₁	M ₂	M ₁	M ₂
0,02	0,1	100	100	0,02	0,2	100	100	100	100
"	0,07	90	"	"	0,1	"	"	"	"
"	0,05	70	"	"	0,07	"	"	"	"
"	0,03	40	"	"	0,05	"	"	"	"
"	0,02	20	"	"	0,03	"	"	"	"
"	0,01	0	90	"	0,02	"	"	90	"
				"	0,01	90	90	85	85

Daß, wie von mehreren Seiten behauptet, eine gewisse Reaktivierung sowohl mit Albumin- als mit Globulinzusatz gelingt, läßt sich unschwer durch quantitative Verhältnisse erklären. Der Unterschied der Wirkung von Albumin und von Globulin im Versuche ist ja evident.

Als eine Inaktivierung in gewissem Sinne ist auch die Filtration durch Chamberland- oder Berkefeldkerzen zu erachten, wie die Komplementfunktion hierdurch aufgehoben oder herabgemindert wird. Untersuchungen über das Verhalten des Komplementes bei Filtration sind zuerst von Ehrlich und Morgenroth¹⁾ vorgenommen worden, später eingehender von Neisser und Doering²⁾, Andrejew³⁾, Muir und

1) Berl. klin. Wochenschr., 1900, p. 681.

2) Ebenda, 1901, p. 593.

3) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte, Bd. 33, 1910, p. 377.

Browning¹⁾, Manot und Nowaczuski²⁾, McIntosh³⁾ und Schmidt⁴⁾. Uebereinstimmend wurde gefunden, daß die Komplementfunktion weit stärker schwindet, wenn das Serum verdünnt, als wenn es unverdünnt filtriert wird.

Dagegen fanden sich keine Angaben, inwiefern beide Fraktionen oder nur die eine, und dann welche, zurückgehalten werden. Von vornherein wäre man geneigt, zu vermuten, daß, wenn nur die eine Funktion schwinde, dies die Mittelstückfunktion sei. Diese Annahme wurde von meinen Versuchen bestätigt, wie auch Schmidt⁵⁾ nach Beendigung meiner Versuche mitgeteilt hat, daß die Filtrate nur Endstückwirkung haben. Er gibt ferner an, daß bei wiederholter Filtration durch dieselbe Kerze der Komplementwert des Filtrates wieder hinaufsteigt, während der Eiweißgehalt immer niedriger wird. Bei wiederholter Filtration, jedoch nicht so viele Male wie bei Schmidt, schwindet oft auch ein Teil der Endstückfunktion, der Verlust an Mittelstückfunktion ist jedoch immer bei weitem der stärkere gewesen.

Versuch 51. Volumen 1,25 ccm. 0,05 ccm 5-fach sensibilisierte 25-proz. Hammelblutaufschwemmung. Durch eine ungebrauchte Berkefeldkerze werden nacheinander drei Portionen à 2 ccm Meerschweinserserum (Titer 0,015 ccm), mit Kochsalzlösung 10-fach verdünnt, geschickt — Filtrat 1, 2, 3. Durch eine andere, ebenfalls ungebrauchte Kerze werden 50 ccm 10mal mit Kochsalzlösung verdünntes Serum filtriert und vom Filtrate 30 ccm wieder durch diese Kerze geschickt — Filtrat 4, 5. E und M in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ erhalten.

Filtrat- menge ccm	Filtrat allein					Filtrat + 0,02 ccm E					Filtrat + 0,02 ccm M				
	Filtrat No.					Filtrat No.					Filtrat No.				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1,0	0	0	100	90	0	0	0	100	100	0	100	100	100	100	100
0,7	0	0	"	70	0	.	.	"	80	.	"	"	"	"	"
0,5	0	0	80	50	0	.	.	90	60	.	"	"	"	"	"
0,3	0	0	60	30	0	.	.	75	35	.	90	"	"	"	90
0,2	0	0	35	14	0	.	.	50	20	.	70	90	"	"	70
0,1	0	0	18	6	0	.	.	25	8	.	50	75	90	90	50

1) Journ. of Path. and Bact., Vol. 13, 1909, p. 232.

2) Compt. rend. Soc. Biol., T. 69, 1910, p. 430.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 5, 1910, p. 76.

4) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 1911, p. 513.

5) Arch. f. Hyg., Bd. 76, 1912, p. 284.

Zusammenfassung.

1. Die Spaltung des Meerschweinchenserums gelingt am besten mit der Kohlensäuremethode. Durch Verwendung dieser Methode hergestellt, sind die Albumine einigermaßen eigenhämolytisch; diese Eigenhämolyse tritt in der Regel langsam ein und wird bei einer Vermehrung der Ambozeptormenge gesteigert. Die Angaben Noguchis und Bronfenbrenners konnten nicht bestätigt werden.

2. Insofern sich in den Globulinen hemmende Funktionen nicht gebildet haben, ist das Verhältnis zwischen Endstück und Mittelstück in quantitativer Beziehung ungefähr das nämliche wie zwischen Ambozeptor und Komplement; d. h. der Titer des einen Faktors ist von der Menge, welche vom anderen Faktor benutzt wird, recht unabhängig. Die von einer gewissen Menge des einen Faktors hervorgerufene Hämolyse wird gesteigert, wenn die Menge des anderen vermehrt wird, bis zu einem Maximalwert, welcher in der Regel erreicht wird, wenn die Menge des anderen Faktors der Titerwert geworden ist. Die Ambozeptormenge spielt keine bemerkenswerte Rolle. Die Hämolysegeschwindigkeit steigt sowohl bei Vermehrung des Endstückes als auch des Mittelstückes. Die Hämolyse ist am stärksten bei gleichzeitigem Zusatz beider Fraktionen.

3. Außer den von Thomsen und mir gefundenen Bedingungen für die Bildung der Brandschen Modifikation ist in diesen Untersuchungen die Bedeutung verschiedener Faktoren nachgewiesen.

a) Die Salzkonzentration. Die Umbildung geschieht am schnellsten in 0,9-proz. NaCl-Lösung und wird sowohl bei einer Herabsetzung wie auch, und in weit höherem Maße, bei einer Erhöhung der Konzentration gehemmt. In 10-proz. NaCl-Lösung ist eine Umbildung überhaupt nicht wahrzunehmen.

b) Die Wasserstoffionenkonzentration. Die Umbildung geht am schnellsten bei beinahe neutraler Reaktion vor sich, $pH \cdot 7-7,5$, und wird sowohl von saurer wie auch von alkalischer Reaktion gehemmt.

c) Die Temperatur. Die Geschwindigkeit der Umbildung wird mit der Temperatur gesteigert. Bei 0° tritt die Umbildung nur langsam ein. Besonderes Interesse bietet die Tatsache dar, daß eine Umbildung auch bei 56° stattfindet, insofern die Globuline dazu geneigt sind, umgebildet zu werden.

Dieses Verhältnis erklärt die mangelnde Uebereinstimmung, die zwischen den Angaben über die Thermoresistenz der Globuline besteht. So beruht in der Tat eine im Verlauf weniger Minuten auftretende scheinbare Inaktivierung auf einer Entwicklung der Brandschen Modifikation. Die eigentliche Inaktivierung ist dagegen nicht dieser Modifikation zuzuschreiben, weil diese bei längerer Erhitzung destruiert wird.

4. In betreff der Brandschen Modifikation ist ferner nachgewiesen:

a) daß die Erscheinung, daß sich Hämolyse bei gleichzeitigem Zusatz von Albumin und umgebildeten Globulinen nicht ergibt, wie von Hecker angegeben, darauf beruht, daß die Gegenwart des Albumins die Bindung des Mittelstückes hemmt, daß diese Wirkung jedoch nicht auf der Endstückfunktion beruht, weil sie sich auch in inaktivierten Albuminen vorfindet;

b) daß sensibilisierte Butkörperchen die Mittelstückfunktion entfernen können, ohne die hemmende Funktion zu entfernen. Dagegen ist eine Trennung dieser Funktionen bei Verwendung verschiedener kolloidalen Suspensionen und Emulsionen nicht gelungen;

c) daß verschiedene Lipaide (oleinsaures Natron und Lecithin) eine Rolle bei der Bildung der Brandschen Modifikation spielen können, indem der Zusatz dieser Stoffe die Tendenz zur Umbildung erhöht.

Alkoholische Extrakte aus eingetrockneten Meerschweinchenserum wirken weit weniger hämolytisch, als die Extrakte von Menschenserum (nach den Versuchen Friedemanns und Rozenblatts); diesem Unterschied ist vielleicht der Unterschied in der Neigung dieser Globuline, hemmende Funktionen zu bilden, zu verdanken;

d) daß Globuline, in welchem die Brandsche Modifikation sich gebildet hat, für quantitative Titrierung nicht benutzt werden können, weil die Wirkung sich nie so gut wie vor der Umbildung ergibt, und ferner von dem Intervall zwischen dem Zusatz von Globuline und von Albumin und auch von der Ambozeptormenge abhängig ist;

e) daß eine beginnende Umbildung dadurch nachgewiesen werden mag, daß der Anspruch auf Sensibilisierung sich erhöht;

f) daß Globuline, durch Dialyse oder nach der Methode Sachs und Altmanns dargestellt, zur Umbildung geneigt sind und daß es durch eine Aenderung der Technik nicht gelingt, Globuline darzustellen, welche mit weniger Leichtigkeit hemmende Funktionen bilden.

5. Er-Lecithin, in Alkohol gelöst, dem Serum vor der Kohlensäuredurchleitung hinzugesetzt, kann verursachen, daß die Globuline eigenhämolytischer werden. Diese Wirkung hat Er-Lecithin, in destilliertem Wasser gelöst, dagegen nicht gehabt.

6. Auxilytische Funktionen. Es wird nachgewiesen, daß sowohl erwärmtes Serum als auch die Fraktionen, eine jede für sich, besonders Albumin, das Vermögen besitzen, die Hämolyse durch Meerschweinchenserum zu vermehren, und daß dieses Vermögen von anderen Funktion als denjenigen des Endstückes und Mittelstückes abhängig sein muß.

7. Inaktivierung. Es hat sich ergeben

a) daß bei $\frac{1}{2}$ -ständiger Erwärmung auf 56° das Meerschweinchenserum jede Komplementwirkung verliert (oder jedenfalls bis unter $\frac{1}{500}$ der ursprünglichen Stärke geschwächt wird);

b) daß Meerschweinchenserum durch Erwärmung sich derart verändert, daß die Wirkung durch eine Vermehrung der Ambozeptormenge erhöht wird;

c) daß Globuline wahrscheinlich, jedenfalls im Serum, etwas resistenter als Albumine sind;

d) daß Globuline durch Erwärmung sich auf solche Weise umbilden lassen, daß der Anspruch auf Albumin sich erhöht;

e) daß beim Lagern besonders die Mittelstückfunktion destruiert wird, die Brandsche Modifikation sich aber nicht nachweisen läßt;

f) daß bei Verdünnung mit destilliertem Wasser beide Funktionen, am häufigsten jedoch die Endstückfunktion, am stärksten geschwächt werden mögen, daß eine Bildung der Brandschen Modifikation sich aber nicht nachweisen läßt;

g) daß bei Filtrierung von Serum durch Berkefeldkerzen besonders die Mittelstückfunktion entfernt wird.

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor:
Dr. Th. Madsen).]

Versuche über Komplement. III.
Die Komplemente verschiedener Tiere.

Von **W. Leschly**,
Assistent am Institute.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. August 1915.)

Aus der Literatur ergibt sich, daß die Wirkung von Seren in verschiedenen Kombinationen große Unterschiede darbieten kann. Die ersten Untersuchungen über diese Frage liegen von Ehrlich und Morgenroth¹⁾ vor, welche den Titer für 2 Ambozeptoren für Rinderblutkörperchen, die von Kaninchen und der Gans herrührten, mit verschiedenen Komplementen (in welchen Mengen diese verwendet wurden, geben die Verfasser nicht an) bestimmten; spätere besonders von Noguchi und Bronfenbrenner²⁾ und von Muir³⁾ mit Ambozeptoren für Rinderblutkörperchen von 5 verschiedenen Tieren (Kaninchen, Katze, Ziege, Ente und Ochs). Alle haben ausfindig gemacht, daß sich ein großer Unterschied des Titers in den verschiedenen Kombinationen vorfindet, ja daß einige Kombinationen sogar Hämolyse überhaupt nicht hervorrufen können, obgleich sowohl Komplement als auch Ambozeptor in anderen Kombinationen wirksam sind. Durchgehends wirken Säugetierkomplemente am besten mit Säugetierambozeptoren und umgekehrt. Vogelkomplemente am besten mit Vogelambozeptoren, doch ist diese Regel nicht ohne Ausnahme. Seren nahestehender Tiere haben oft ganz verschiedene Eigenschaften. So beobachtete Muir³⁾, daß Meerschweinchenkomplement, welches mit Gänseambozeptor gute Hämolyse gibt, mit Entenambozeptor überhaupt nicht wirken konnte, und daß Taubenkomplement es nicht vermochte, einen der Säugetierambozeptoren zu aktivieren, während Hühnerkomplement mit allen wirken konnte. In betreff der Normalseren liegen Untersuchungen von Cernovodéanu⁴⁾ und Cernovodéanu und Henri⁵⁾ vor. Ehrlich und Morgenroth¹⁾ sind der Meinung, aus ihren Versuchen schließen zu können, daß sich verschiedene Komplemente vorfinden. Sowohl in den

1) Berl. klin. Wochenschr., 1901, p. 569.

2) Journ. of exper. Med., Vol. 13, 1911, No. 1.

3) Journ. of Path. and Bact., Vol. 16, 1912, p. 523.

4) Compt. rend. de la Soc. Biol., T. 61, 1907, p. 741.

5) Ebenda T. 58, 1905, p. 855.

ihrigen als in Muirs¹⁾ Versuchen vermißt man die Angabe der Mengen, welche von dem anderen Faktor benutzt werden, indem nur der Titer für Ambozeptor oder Komplement angeführt ist. Muir definiert Titer als die kleinste Menge Serum, welche mit der optimalen Menge Antiserum (Ambozeptor) totale Hämolyse ergeben kann, und sagt, oft sei die für Totalhämolyse nötige Menge Antiserum größer mit dem einen als mit dem anderen Komplemente.

Außer der hämolytischen Fähigkeit hat Muir auch die Fähigkeit der verschiedenen Komplemente, sich von Blutkörperchen in Verbindung mit verschiedenen Ambozeptoren binden zu lassen, untersucht. Er hat ausfindig gemacht, daß durch eine bestimmte Kombination von Ambozeptor und Blutkörperchen sich einige Komplemente gar nicht binden, andere sich binden, aber nicht Hämolyse hervorrufen, und wiederum andere sich binden und hämolysieren; Kombinationen von Blutkörperchen und verschiedenen Ambozeptoren gegenüber ergeben die Komplemente nicht gleichartige Verhältnisse. Als Beispiel läßt sich erwähnen, daß Pferdeserum nur mit Katzenambozeptor, nicht aber mit Kaninchen-, Ziegen-, Rinder- und Entenambozeptor hämolysierte, dagegen band sich Pferdekompement z. B. mit Kaninchenambozeptor sehr gut. Muir schließt daher, daß „immune body“ (Ambozeptor), obgleich er nicht diesem, sondern dem Komplemente die eigentliche lytische Fähigkeit zuschreibt, nicht nur ein Zwischenglied sein, sondern auch zugleich hilfsweise toxische Wirkung haben müsse.

Auch andere Verfasser haben Untersuchungen über die verschiedene Wirkung der Immunsere verschiedener Tiere (demselben Komplemente und denselben Blutkörperchen gegenüber) unternommen. So machten Liefmann und Cohn²⁾ ausfindig, Ziegenambozeptor (für Hammelblut) könne das „Mittelstück“ von Meerschweinchenkomplement nicht binden, was Kaninchenambozeptoren nach Sachs und Bolkowska³⁾ leicht vermögen. Nach Muir (l. c.) kann Ziegenambozeptor (für Rinderblut) jedoch Meerschweinchenkomplement gut binden. Noguchi und Bronfenbrenner (l. c.) erwähnen, daß ihre Kaninchenambozeptoren (für Menschenblut) bisweilen von homologem, bisweilen von heterologem Komplemente am besten aktiviert wurden, außerdem fanden sie, daß Hühnerambozeptoren von Schweineserum (unter allen untersuchten Säugetierseren am besten) recht gut, von Meerschweinchenserum dagegen gar nicht aktiviert wurden. Verschiedene Verfasser (unter anderen Liefmann und Cohn) haben daher zwischen den lytischen Antistoffen (Ambozeptoren) und den Antistoffen, welche Komplementbindung bewirken, den sogenannten Bordet-Gengouschen Antistoffen [vgl. Neufeld und Haendel⁴⁾] und Browning und Wilson⁵⁾, welche fanden, daß bei der Immunisierung diese Eigenschaften

1) Journ. of Path. and Bact., Vol. 16, 1912, p. 523.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, p. 58, und Bd. 11, 1911, p. 166.

3) Ebenda Bd. 7, p. 778.

4) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 28, 1908, p. 198.

5) Journ. of Hygiene, Vol. 11, 1911, p. 208.

sich nicht parallel entwickeln], unterscheiden wollen. Entscheidende Beweise für die Richtigkeit der gegebenen Erklärungen liegen nicht vor. Wenn indessen auch die Existenz verschiedener Antistoffe im hier erwähnten Sinne nicht festgestellt ist, kann Muir kaum mit Recht behaupten, die einzige rechte Weise, die „komplettierende“ Fähigkeit eines Serums zu ermitteln, sei, die Menge, welche sich bindet, zu bestimmen.

Den Untersuchungen Ferratas¹⁾ nach muß ferner der komplexen Konstitution der Komplemente Rechnung getragen werden. Hinzugefügt sei ferner, daß man darauf aufmerksam geworden ist, daß sich im Serum Funktionen vorfinden, die weder Ambozeptoren noch Komplemente sind, jedoch bei der Hämolyse eine bedeutende Rolle spielen können.

So muß man wohl Muir darin recht geben, daß der wahrgenommene Unterschied der Hämolysewirkung des Pferdeserums auf Verschiedenheiten der verwendeten Immunseren beruhen muß; dieser Unterschied braucht aber nicht den Ambozeptorfunktionen selbst, sondern ebensowohl dem verschiedenen Gehalt an anderen Funktionen zu verdanken sein [vgl. unter anderen Bordet und Gay²⁾]. Muir erwähnt nicht, ob das überschüssige Ambozeptorserum nach vollführter Bindung entfernt wurde oder nicht; auch dann, wenn er mit sensibilisierten Blutkörperchen gearbeitet hat, ist gleichwohl kein Beweis gegeben, daß der wahrgenommene Unterschied Verschiedenheiten in den Ambozeptoren selbst zu verdanken sei. Das würde nur dann gelten, wenn die Ambozeptorfunktion die einzige Funktion wäre, welche Blutkörperchen binden könne, was bei weitem nicht der Fall ist. Im Gegenteil lassen sich mehrere sowohl hemmende als auch fördernde Funktionen an Blutkörperchen binden [vgl. unter anderen Fränkel³⁾, v. Liebermann und v. Fenyvessy⁴⁾]. Die Frage von den hemmenden und fördernden Funktionen in verschiedenen Seren wird später erläutert werden; hier sei nur so viel erwähnt, daß die Seren, welche in den Kombinationen am besten wirken, alle fördernde Funktionen enthalten. Die Anwesenheit solcher Funktionen verursacht indessen, daß es nur annäherungsweise möglich ist, die Größe der Ambozeptor- und Komplementfunktionen zu bestimmen.

Meine eigenen Versuche über ungespaltene Tierseren als Komplemente sind fast ausschließlich mit Hammelblutkörperchen und Kaninchenambozeptoren ausgeführt und haben besonders zu bestimmen gesucht, welche Bedeutung eine Variation der Ambozeptormenge in betreff der verschiedenen Komplemente hat, und welche Verhältnisse sich zwischen den mit verschiedenen Komplementen bestimmten Titern ergeben.

1) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 20, 1906, p. 467.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 10, 1911, p. 388.

4) Ebenda 1911, p. 479.

Schweineserum enthält immer so erhebliche Mengen Ambozeptor für Hammelblut, daß man sie, um den Ambozeptortiter bestimmen zu können, entfernen muß. Da sie sich in der Kälte leicht binden, läßt sich dies ohne Schwierigkeit und ohne Schwächung des Komplementes leicht ausführen. Durch diese Behandlung wird nach Fränkel¹⁾ nicht allein Ambozeptor (und Agglutinin), sondern auch eine „hemmende“ Funktion entfernt.

Ist das Serum mit Hammelblutkörperchen nicht behandelt, so sieht man konstant die zuerst von Marks²⁾ erwähnte Erscheinung, daß die Hämolyse langsamer mit als ohne Immunambozeptor verläuft.

Versuch 1. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Als Komplement frisches Schweineserum, 1) unbehandelt, 2) 16 Stunden bei 0° mit Hammelblutkörperchen behandelt. Ambozeptortiter (mit Meerschweinchenserum bestimmt) 0,0003 ccm. Komplementtiter für Serum 1 und 2 mit 0, 5 und 20 Ambozeptoreinheiten = 0,04 ccm.

Serummenge ccm	Serum 1			Serum 2		
	Hämolyse komplett mit Ambozeptoreinheiten			Hämolyse komplett mit Ambozeptoreinheiten		
	0	5	20	0	5	20
0,2	2'	2 1/2'	4'	—	4'	2'
0,1	3 1/2'	4'	12'	—	8'	3'
0,05	11'	14'	60'	—	14'	8'

In der Regel ist es nur möglich gewesen, diese Hemmung durch Beobachtung eines längeren Verlaufes nachzuweisen, ein einziges Mal habe ich jedoch geringere Wirkung von Schweineserum mit als ohne Ambozeptor gesehen. Ist Schweineserum mit Hammelblut vorbehandelt, so ergibt sich diese Erscheinung nicht, die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt aber mit steigender Ambozeptormenge zu. Inwiefern die mit unbehandeltem Serum wahrgenommene Hemmung dem Gehalt des Serums an Normalambozeptoren oder einer hemmenden Funktion zu verdanken sei, werde ich nicht erörtern können, diejenige Funktion der Kaninchenambozeptoren, die dem Schweineserum entgegenwirkt, läßt sich in jedem Falle teilweise von den Blutkörperchen binden; ein dem im Versuche ergebenden entsprechender

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 10, 1911, p. 388.

2) Ebenda Bd. 8, 1911, Heft 4.

Verlauf kann sich nämlich auch ergeben, wenn die Blutkörperchen sensibilisiert und gewaschen sind.

Um Hämolyse hervorzurufen, erfordert das Schweineserum größere Mengen Immunambozeptor, als Meerschweinchenserum.

Versuch 2. Volumen 1,25 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Komplementtiter (10 Einheiten, Ambozeptor 1) Meerschweinchenserum: 0,013 ccm, Schweineserum: 0,05 ccm.

Ambozeptor No.	Ambozeptortiter mit		2 Einheiten Ambozeptor No.	Komplementtiter	
	0,025 Meerschw.- serum	0,1 Schweine- serum		Schweine- serum	Meerschw.- serum
1	0,0005	0,002	1	0,1	0,013
2	0,01	0,03	2	0,06	"
3	0,0015	0,004	3	0,1	"
4	0,0015	0,003	4	0,1	"
5	0,002	0,003	5	0,08	"
6	0,01	0,025	6	0,08	"
7	0,0015	0,002	7	0,1	"
8	0,005	0,01	8	0,1	"

Der gegenseitige Unterschied zwischen dem Titer mit Meerschweinchenserum und demjenigen mit Schweineserum variiert nicht ganz wenig, einige Titer sind, wie auch Versuch 2 zeigt, einander beinahe gleich, andere sind sehr verschieden.

Da der Komplementtiter des Schweineserums mit der Ambozeptormenge und selbstverständlich auch umgekehrt erheblich variiert, werden die für die Titrierung der Ambozeptoren erwählten Mengen etwas willkürlich, sowie auch der Titerbegriff in dieser Kombination etwas unbestimmter ist.

Versuch 3. Volumen 1,25 ccm. 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptortiter (mit Meerschweinchenserum bestimmt) = 0,0008 ccm. Frisches Schweineserum, 1) unbehandelt, 2) 1 Stunde bei 0° mit Hammelblut behandelt. 0,4 ccm von Serum 2 allein ruft keine Hämolyse hervor.

Ambozeptor- einheiten	Komplementtiter	
	Serum 1	Serum 2
0	0,04	
1	"	0,05
2	"	0,04
5	"	"
10	"	"
20	0,03	0,03
50	0,025	0,025

Auch mit unbehandeltem Schweineserum ist das Gebiet, wo der Komplementtiter von der Ambozeptormenge unabhängig ist, enger als mit Meerschweinchenserum; der Ambozeptortiter kann selbstverständlich nicht bestimmt werden. Ohne Immunambozeptor untersucht, ist dagegen der Komplementtiter frischen Schweineserums recht konstant, in der Regel ca. 0,08 ccm für 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Ganz gleichartige Ergebnisse wie mit Hammelblut habe ich auch erhalten, wenn ich Rinderblut und Schweineblut und Ambozeptoren für diese Blutarten von Kaninchen benutzt habe. Auch in diesen Kombinationen verlangt Schweineserum größere Ambozeptormengen als Meerschweinchenserum. Die im Schweineserum enthaltenen Normalambozeptoren für Hammelblut werden besser von Meerschweinchensekomplement aktiviert, wenn frisches unerwärmtes Serum oder die unerwärmte Globulinfraktion (welche die ganze Ambozeptormenge enthält) benutzt wird, dagegen von Schweineserum besser, wenn man inaktivierte Schweinesera gebraucht. (Versuch 4.)

Versuch 4. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Schweineserum, 1) unbehandelt, 2) 1 Stunde bei 0° mit Hammelblut behandelt.

Titer für	allein ccm	+ Meersch.-Serum		+ Schweineserum 2	
		0,1 ccm	0,05 ccm	0,4 ccm	0,2 ccm
Schweineserum 1	0,08	0,04	0,04	0,06	0,06
Schw.-Glob. aus Serum 1	—	0,04	0,04	0,06	0,06

Inaktiv. Schweine- serum 1 ccm	+ Meersch.- Serum		+ Schweine- serum 2		Kontrolle	
	0,05	0,025	0,2	0,1		
0,2	85	45	100	100	Meersch.- Serum	Hämolyse
0,16	80	40	"	"		
0,13	75	30	"	"	Schweine- serum 2	0,1 ccm 6 0,05 " 0 0,5 „ 0
0,1	60	25	95	90		
0,08	50	14	80	70		
0,06	45	12	40	40		
0,05	25	8	25	20		
0,04	20	6	10	6		

Wie Schweineserum, enthält auch Menschenserum in der Regel reichliche Normalambozeptoren für Hammelblut, obwohl in wechselnder Menge [vgl. Noguchi¹⁾ u. a.]. Wenn man den Titer für Immunambozeptoren zu bestimmen wünscht, muß man daher zuerst die Normalambozeptoren entfernen. Da sie sich leicht an die Blutkörperchen binden, auch in der Kälte, kann dies, ohne das Komplement zu schwächen, ausgeführt werden, verursacht jedoch leicht Hämolyse. Menschenserum ohne Ambozeptorgehalt kann man durch Benutzung fötalen Serums (Nabelschnurblut) erhalten. Ich habe in allen 45 Seren erwachsener Menschen, teils unbehandelt, teils mit Hammelblutkörperchen behandelt, samt 6 Seren Neugeborener, untersucht.

Der Ambozeptorgehalt der Seren der Erwachsenen hat in meinen Versuchen recht bedeutend variiert, obschon kaum so sehr wie in Versuchen anderer Verfasser, der Komplementgehalt ist dagegen in den frischen Seren der gleiche gewesen. Tabelle I gibt eine Uebersicht über die Ergebnisse der Untersuchungen von 20 Seren.

Tabelle I. Der Komplementtiter im Volumen 2,5 ccm mit 0,5 ccm 5-fach sensibilisierter 5-proz. Hammelblutaufschwemmung bestimmt. Der Ambozeptortiter (für 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung) wurde gefunden, indem untersucht wurde, welche Menge 5-proz. Aufschwemmung, 0,1 ccm Menschenserum im Volumen 2,5 ccm mit Zusatz von 0,05 ccm Meerschweinchenserum zu lösen vermochte. Die Menschensera sind ganz frisch untersucht.

No.	Komplement- titer ccm	Ambozeptor- titer ccm	No.	Komplement- titer ccm	Ambozeptor- titer ccm
1	0,1	1,0	11	0,07	0,5
2	0,08	0,2	12	0,08	0,2
3	0,1	0,4	13	0,06	0,5
4	0,09	0,5	14	0,1	1,0
5	0,08	1,0	15	0,09	0,5
6	0,07	1,0	16	0,08	0,2
7	0,08	0,6	17	0,09	0,2
8	0,09	0,2	18	0,07	0,12
9	0,1	0,25	19	0,1	0,1
10	0,06	0,25	20	0,09	1,0

Wie Versuch 5 zeigt, ist der Komplementtiter von der verwendeten Ambozeptormenge unabhängig gewesen, und der

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 1911, p. 715.

Ambozeptortiter ist ebenfalls von der Komplementmenge unabhängig gewesen, wenn die Normalambozeptoren des Komplementserums entfernt wären.

Versuch 5. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Als Komplement teils fötales Menschenserum, teils eine Mischung von mehreren Seren erwachsener Menschen (1 Stunde bei 0° mit Hammelblut behandelt).

Ambozeptor- menge ccm	Fötales Serum								Serum Erwachsener					
	0,4	0,3	0,25	0,2	0,16	0,13	0,1	0,08	0,3	0,2	0,15	0,1	0,08	0,06
0,1	100	100	100	100	100	100	100	90	100	100	100	100	100	90
0,05	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	90
0,02	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	95
0,01	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	90
0,005	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	90
0,002	90	90	90	90	90	90	90	80	95	95	90	90	90	80
0,001	80	75	75	70	70	75	75	70	90	90	90	80	80	70

Kontrolle: { 0,5 ccm fötales Serum
0,3 „ Serum Erwachsener } allein keine Hämolyse.

Ebenso wie Schweineserum, erfordert das Menschenserum durchgehends eine stärkere Sensibilisierung als Meerschweinchenserum, was sich dadurch ergibt, daß die Ambozeptoren mit Menschenserum als Komplement einen niedrigeren Titer als mit Meerschweinchenserum haben. Der Unterschied ist nicht konstant, mit ganz frischen Seren am kleinsten, möglicherweise mag dies daher darauf beruhen, daß die untersuchten Seren nicht von gleichem Alter sind; beim Lagern sowohl mit als ohne das Gerinnsel wird nämlich der Anspruch auf Sensibilisierung weit schneller, als mit Meerschweinchenserum der Fall ist, gesteigert.

Versuch 6. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Als Komplement teils Meerschweinchenserum, teils fötales Menschenserum.

Serum		Titer für Ambozeptor			
Art	Menge	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
Meerschweinchen	0,1	0,002	0,00013	0,0005	0,0004
"	0,05	"	"	"	"
"	0,02	"	"	"	"
"	0,01	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Mensch	0,4	0,005	0,0005	0,002	0,0013
"	0,2	"	"	"	"
"	0,1	"	"	"	"
"	0,05	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1

Kaninchenserum. Enthält wie die vorher erwähnten Seren in variierender Menge Normalambozeptoren für Hammelblut. Die Komplementwirkung ist von der verwendeten Menge Ambozeptor recht abhängig, sowohl für unbehandeltes als auch für mit Hammelblut behandeltes Serum, und variiert ebenfalls den verschiedenen Ambozeptoren gemäß, welche benutzt werden. In der Regel findet sich ein Optimum mit mittelgroßen Ambozeptormengen. Der mit Kaninchenkomplement bestimmte Titer für einen Immunambozeptor wird deshalb auch von der verwendeten Komplementmenge abhängig, der höchste Titer wird in der Regel durch Verwendung mittelgroßer Komplementmengen gewonnen, ist jedoch immer niedriger als der mit Meerschweinchenserum gefundene.

Versuch 7. Volumen 1,25 ccm. 0,25-proz. Hammelblutaufschwemmung. Kaninchenserum, teils 1) unbehandelt, teils 2) 2-mal $\frac{1}{2}$ Stunde bei 0° mit Hammelblut behandelt. Ambozeptortiter ($\frac{1}{4}$ ccm 5-proz. Aufschwemmung) mit Meerschweinchenkomplement 0,0006 ccm.

Ambozeptor- menge ccm	Titer für Kaninchenserum		Kaninchen- serum 2 ccm	Ambozeptor- titer ccm
	1	2		
0	0,08	> 0,5	0,05	> 0,1
0,0006	"	"	0,05	0,006
0,0012	"	0,1	0,08	0,004
0,003	"	"	0,1	0,001
0,006	0,06	0,08	0,15	0,0008
0,012	0,05	0,06	0,2	0,001
0,03	0,08	0,1	0,3	0,001
0,06	0,13	0,13	0,5	0,002

Hundeserum. Im ganzen habe ich 4 Sera untersucht, welche alle reichliche Normalambozeptoren enthielten. Das Vermögen, als Komplement zu wirken, war von der verwendeten Ambozeptormenge nur wenig abhängig, sei es, daß die Normalambozeptoren entfernt wären oder nicht. Wenn man als Komplement Serum, mit Hammelblut behandelt, verwendet, ist der Titer der Immunambozeptoren von der für die Titrierung verwendeten Serummenge unabhängig, aber immer kleiner als mit Meerschweinchenserum gewesen.

Versuch 8. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Hundeserum frisch, unbehandelt.

Hunde- serum ccm	Hämolyse mit Ambozeptoreinheiten						
	0	2	5	10	20	50	100
0,1	100	100	100	100	100	100	100
0,07	"	"	"	"	"	"	"
0,05	"	"	"	"	"	"	"
0,03	80	80	80	80	70	80	70
0,02	50	50	55	50	40	45	40
0,01	20	16	16	10	10	20	12

Katzenserum. Im ganzen habe ich Sera von 2 Katzen und von 2 Kätzchen untersucht. Die Sera der Kätzchen enthielten keine nachweisbare Menge Ambozeptor für Hammelblut, und ihre Fähigkeit, als Komplement zu wirken, variierte mit der Ambozeptormenge nicht. Die Sera der erwachsenen Katzen enthielten etwas Normalambozeptor, nach dessen Entfernung der Komplementtiter des einen Serums ein wenig, des anderen fast nicht von der Ambozeptormenge abhängig war.

Versuch 9. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Als Komplement Serum einer erwachsenen Katze, 2mal 1 Stunde bei 0° mit Hammelblut behandelt. Ambozeptoreinheit (mit Meerschweinchenserum) 0,0008 ccm.

Katzenserum ccm	Hämolyse mit Ambozeptoreinheiten					
	2 1/2	5	10	20	50	100
0,5	100	100	100	100	100	100
0,4	95	95	100	100	100	100
0,3	80	80	80	90	90	90
0,25	55	60	55	60	70	75
0,2	35	35	35	40	50	60
0,16	25	20	20	25	35	40
0,13	12	10	12	16	16	30
0,1	8	6	6	10	10	20
0,08	4	0	2	4	6	10
0,06	0	0	0	0	0	4
0,05	0	0	0	0	0	0

Mit 0,025 ccm Meerschweinchenserum Ambozeptortiter 0,0002 ccm
 „ 0,5 „ Katzenserum „ 0,0005 „
 „ 0,4 „ „ „ 0,0008 „

Pferde-, Rinder-, Ziegen- und Hammelserum haben alle in dieser Kombination nur geringe Wirkung gehabt, die Wirkung wird gewissermaßen durch eine Vermehrung der Ambozeptormenge gesteigert.

Von hierhergehörigen Versuchen kann ich ferner erwähnen, daß einige Hühnerambozeptoren für Hammel- und Kaninchenblutkörperchen sich nicht von Meerschweinchen-serum, dagegen alle von Schweineserum komplettieren ließen. Kaninchenserum wirkte als Komplement mit der ersten, nicht aber mit der zweiten Art. Taubenserum komplettierte dagegen gut die letzte, überhaupt nicht die erste Art Ambozeptor.

Außer den bisher erwähnten Verhältnissen habe ich auch den komplexen Bau der erwähnten Sera untersucht, indem ich besonders die Aufmerksamkeit auf das Vermögen, mit den Fraktionen des Meerschweinchen-serums wirken zu können, und auf das Vermögen und die Neigung der Globuline, hemmende Funktionen zu bilden, gerichtet habe. Die komplexe Konstitution für alle erwähnten Sera ist früher erwiesen, insofern man überhaupt sagen kann, ein solcher Beweis sei geführt (vgl. Abschnitt II dieser Abhandlung). Ein Vergleich zwischen den Verhältnissen, welche sich mit den verschiedenen Seren ergeben, darf nur mit großer Vorsicht unternommen werden, und in dieser Beziehung ist kaum immer hinlängliche Zurückhaltung angewendet worden. Wenn dabei alle untersuchten Sera den gewöhnlichen hämolytischen Systemen gegenüber weit geringer wirkende Albuminfraktionen ergeben als Meerschweinchen-serum, was wohl zu dem von Gengou¹⁾ nachgewiesenen Ergebnis, daß Meerschweinchen-serum unter allen untersuchten Seren die am stärksten desaggregierenden Eigenschaften besitzt, in Relation steht, ja wenn mehrere von ihnen eben ganz wirkungslos sind, so ist es deshalb gewiß nicht zulässig, zu schließen, daß diese Sera nicht in anderen Kombinationen Eigenschaften, welche als „Endstück“-Funktionen bezeichnet werden müssen, entfalten können. So scheint es mir z. B. nicht ganz berechtigt, wenn Doerr²⁾ sagt, das „Endstück“ könne, um anaphylaktisch wirkende Gifte herzustellen, nicht erforderlich sein, weil Mäuse wohl [Ritz und Sachs³⁾] anaphylaktische Symptome darbieten können, Mäuseserum aber kein „Endstück“ besitze — ausgenommen, wenn man unter „Endstück“ nur die Fähigkeit, Hammelblutkörperchen zu lösen, versteht. Selbst in hämolytischer Beziehung ist die komplettierende Fähigkeit der Sera sehr verschieden je nach der Kombination von Ambozeptor und Blutkörperchen, welche verwendet werden [Bordet und Gay⁴⁾, Muir (l. c.) u. a.]. Wenn sich also kein Parallelismus in betreff hämolytischer Fähigkeit ergibt, so haben wir noch weniger Ursache, zu vermuten, daß ein solcher sich anderen Antigen-Antikörper-Kombinationen gegenüber vorfinde. Inwiefern die verschiedene Wirkung der Sera auf Verschiedenheiten in den Komplementen selbst beruhe oder

1) Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique, 1908, No. 1.

2) Wiener klin. Wochenschr., 1912, p. 331.

3) Freie Vereinigung f. Mikrobiol. Dresden 1911. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, Beih. p. 43.

4) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 20, 1906, p. 467.

verschiedenem Gehalt an anderen Funktionen (hemmenden und fördernden) zu verdanken sei, ist mit unserer jetzigen Kenntnis unmöglich zu entscheiden. Manches scheint mir indessen für die Wahrscheinlichkeit der letztgenannten Möglichkeit zu sprechen.

Schweineserum.

Marks (l. c.), der, wie früher erwähnt, beobachtete, daß Hämolyse mit Schweineserum schneller verlief, wenn er Immunambozeptor nicht hinzusetzte, hat ferner ausfindig gemacht, daß sowohl inaktiviertes Schweineserum wie auch dessen Globuline auf die Hämolyse mit Meerschweinchenkomplement einen fördernden Einfluß hatte, und schrieb den Normalambozeptoren diese Wirkung zu. Fränkel (l. c.) erhielt ganz andere Ergebnisse. Die Globulinfraction enthält seines Erachtens ein sehr starkes „Mittelstück“ und vermehrt sowohl die Geschwindigkeit als auch das Endergebnis der durch Meerschweinchenserum hervorgerufenen Hämolyse; diese Wirkung könnte indessen den Normalambozeptoren zu verdanken sein, obgleich sie sich ausschließlich in den Globulinen vorfinden; denn die fördernde Fähigkeit blieb nach der Entfernung der Ambozeptoren zurück. Die fördernde Fähigkeit war in isolierten Globulinen recht thermostabil, wurde bei $\frac{1}{2}$ -ständigem Erwärmen auf 56° nicht destruiert, wohl aber durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 70° . Ueber die Frage, inwiefern die fördernde Fähigkeit eine Funktion des „Mittelstückes“ wäre, konnte er sich nicht auslassen, weil er bei Behandlung der Globuline mit sensibilisierten Blutkörperchen unzweideutige Ergebnisse nicht erhielt. In den Albuminen fand er eine Meerschweinchenkomplement hemmende Funktion, die durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 56° destruiert und von roten Blutkörperchen gebunden wurde.

Sowohl in Fränkels (l. c.) als auch in unseren Versuchen zeigten sich die Schweineglobuline nur wenig geneigt, die Brandsche Modifikation zu bilden; nach Fränkel werden sich Schweineglobuline ferner von Meerschweinchenglobulinen unterscheiden, indem sie von Cholesterin nicht gehemmt werden; dieser Unterschied ist um so auffälliger, als Liefmann und Cohn¹⁾ angegeben haben, daß nur frische, nicht aber umgebildete Meerschweinchenglobuline von Cholesterin gehemmt werden.

Von eigenen Versuchen werde ich nur einige wenige anführen. In betreff der Neigung der Globuline, hemmende Funktionen zu bilden, kann ich unsere früheren Angaben völlig bestätigen. In Globulinen aus mehr denn 20 frischen Seren habe ich nie mehr als eine ganz unbedeutende Umbildung wahrgenommen (mit der von uns verwendeten Technik). Der Verlauf war, wie im Versuch 10 angegeben.

Versuch 10. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Schweine-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, p. 669.

serum mit CO₂ gespalten, 1) $\frac{1}{10}$, 2) $\frac{1}{20}$ verdünnt. M $\frac{1}{1}$ gelöst, ein Teil davon gleich auf $\frac{1}{10}$ verdünnt, Proben bei 18° und bei 37° hingestellt und nach 2 Stunden untersucht bei gleichzeitigem Zusatz von 0,02 ccm Meer-schweinchen-E (in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ gewonnen), das keine Eigenhämolysse besitzt. M-Titer, sogleich untersucht, für beide M = 0,003 ccm.

M-Menge ccm	M No. 1				M No. 2			
	$\frac{1}{1}$		$\frac{1}{10}$		$\frac{1}{1}$		$\frac{1}{10}$	
	18°	37°	18°	37°	18°	37°	18°	37°
0,1	100	100	100	100	100	100	.	.
0,07	"	"	"	"	"	"	.	.
0,05	"	"	"	"	"	"	100	100
0,03	"	"	"	"	"	"	"	"
0,02	"	"	"	"	"	"	"	"
0,01	"	"	"	"	"	"	"	"
0,007	"	"	"	"	"	"	"	"
0,005	"	"	"	"	"	"	"	"
0,003	"	95	"	"	"	95	"	"
0,002	95	90	95	95	95	90	95	95
0,001	90	80	90	90	90	80	90	90

Die Hämolysse trat mit den Globulinen, die in der Verdünnung $\frac{1}{1}$ bei 37° gestanden hatten, am langsamsten ein, mit diesen ergab sich auch das von Marks¹⁾ beschriebene Phänomen.

Ausnahmsweise kann man, wenn die Globuline in Verdünnung $\frac{1}{1}$ längere Zeit bei 37° lagern, sehen, daß größere Globulinmengen geringere Hämolysse als kleinere geben; häufiger sieht man, daß die Hämolysse mit großen Dosen langsamer als mit mittelgroßen verläuft, ein Ergebnis, welches Marks¹⁾ beschrieben und für gemeingültig angenommen hat. Sowohl in Thomsens und den meinigen wie auch in meinen späteren Untersuchungen hat sich dieser Verlauf doch nur dann ergeben, wenn die Globuline in beginnender Umbildung waren, weshalb man kaum einen Zweifel hegen kann, daß dieser Verlauf das Zeichen eines geringen Gehaltes an Brand-scher Modifikation ist. Solchen Verlauf habe ich besonders mit den Globulinen gefunden, welche von 5-fach verdünntem Serum niedergeschlagen wurden und in $\frac{1}{1}$ Verdünnung bei 37° gestanden hatten. Also werden auch Schweine-globuline unter den Bedingungen, in denen Meer-schweinchenglobuline am schnellsten hemmende Funktionen bilden; am schnellsten umgebildet;

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, 1911, Heft 4.

die Tendenz, umgebildet zu werden, ist nur weit geringer als in Meerschweinchglobulinen. Ebenfalls wie in letzteren können hemmende Funktionen auch in Schweineglobulinen beim Erwärmen auf 56° entstehen.

Versuch 11. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut-aufschwemmung. 24 Stunden altes Schweineserum mit CO₂ gespalten in der Verdünnung a) $\frac{1}{5}$, b) $\frac{1}{10}$. M $\frac{1}{1}$ gelöst. Titer mit 0, 5 und 20 Ambozeptoreinheiten vor der Spaltung 0,06 ccm, nach der Spaltung ($\bar{a}\bar{a}$ E + M) 0,06 ccm. Ambozeptoreinheit 0,0008 ccm.

M-Menge ccm	0,03 ccm Meersch.-E		0,08 ccm Schweine-E	
	M a	M b	M a	M b
0,2	100	100	100	100
0,1	"	"	"	"
0,07	"	"	"	"
0,05	"	"	"	"
0,03	"	"	"	"
0,02	"	"	"	"
0,01	"	"	"	"
0,007	"	"	"	"
0,005	"	"	90	95
0,003	90	90	70	70

Meerschweinchen-E, aus $\frac{1}{10}$ verdünntem Serum gewonnen, 0,1 ccm hat keine Eigenhämolyse. Die Hämolyse trat in allen Reihen zuerst in den ersten Röhrchen ein.

M		0,03 ccm Meersch.-E gleich		0,03 ccm Meersch.-E $\frac{1}{10}$ Std. nach M	
auf 56° erhitzt	Menge ccm	M a	M b	M a	M b
2'	0,2	20	100	100	100
	0,1	50	"	"	"
	0,05	90	"	"	"
	0,02	100	"	"	"
	0,01	100	"	"	"
4'	0,2	20	100	100	100
	0,1	60	"	"	"
	0,05	100	"	"	"
	0,02	100	"	"	"
	0,01	80	"	"	"
6'	0,2	30	100	100	100
	0,1	60	"	"	"
	0,05	100	"	"	"
	0,02	100	"	"	"
	0,01	80	"	95	95
10'	0,2	30	100	100	100
	0,1	60	"	"	"
	0,05	100	"	"	"
	0,02	70	90	90	90
	0,01	30	80	60	80

Hemmung. 0,015 ccm Meerschweinchenkomplement (Titer) und 5-fach sensibilisiertes Blut. Keine Bindung.

M-Menge ccm	M a auf 56° erhitzt					M b auf 56° erhitzt				
	nicht	2'	4'	6'	10'	nicht	2'	4'	6'	10'
0,5	90	0	0	0	0	100	90	100	100	100
0,2	100	10	40	70	70	"	100	"	"	"
0,1	"	80	90	100	100	"	"	"	"	"
0,05	"	100	100	100	100	"	"	"	"	"

M-Lösungen $\frac{1}{1}$, die 2 Stunden bei 37° gestanden hatten, hemmen in Dosen bis 0,5 ccm nicht.

Auch hierdurch wird ein deutlicher Unterschied zwischen in starker und in schwächerer Verdünnung niedergeschlagenen Globulinen ersichtlich; die letzteren sind dazu weit mehr geneigt, hemmende Funktionen zu bilden, was nicht nur aus Versuchen mit Zusatz des „Endstückes“, sondern auch bei Verwendung ungespaltenen Komplementes nachgewiesen werden kann. In betreff der größeren oder geringeren Neigung, umgebildet zu werden, spielt der Gehalt an Normalambozeptoren keine Rolle; der Erfolg ist derselbe gewesen, sei es daß die Ambozeptoren entfernt werden oder nicht.

Die ausgesprochene geringe Neigung zur Umbildung ist nur für frisches Schweineserum charakteristisch; steht das Serum einige Zeit (ein paar Tage oder weniger), so steigt die Tendenz, hemmende Funktionen zu bilden.

Versuch 12. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm. 48 Stunden altes Schweineserum mit CO₂ gespalten, in der Verdünnung a) $\frac{1}{5}$, b) $\frac{1}{20}$, M $\frac{1}{1}$ gelöst, ein Teil gleich auf $\frac{1}{10}$ verdünnt, Proben 2 Stunden bei 18° und bei 37° hingestellt, mit 0,02 ccm Meerschweinchen-E untersucht (E aus $\frac{1}{10}$ verdünntem Serum gewonnen, 0,1 ccm hat keine Eigenhämolyse). M-Titer gleich a und b = 0,005 ccm.

M a-Menge ccm	E gleich zugesetzt				E $\frac{1}{2}$ Stunde nach M			
	M $\frac{1}{1}$		M $\frac{1}{10}$		M $\frac{1}{1}$		M $\frac{1}{10}$	
	18°	37°	18°	37°	18°	37°	18°	37°
0,1	20	0	100	40	100	100	100	100
0,07	80	0	"	90	"	"	"	"
0,05	90	0	"	100	"	"	"	"
0,03	100	0	"	"	"	"	"	"
0,02	"	0	"	"	"	"	"	"
0,01	"	30	"	"	"	90	"	"
0,007	90	50	"	80	"	80	"	90
0,005	80	60	"	60	90	70	"	70

M b, auf dieselbe Weise untersucht, gibt überall Hämolyse 100.

Die Verhältnisse werden in solchen Seren den für Meer-schweinchenserum geltenden entsprechen können. Bei Er-wärmen auf 56° werden die Globuline älterer Seren auch leichter als frische Globuline umgebildet.

Versuch 13. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. 10-fach sen-sibilisierte Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptortiter 0,0005 ccm. 72 Stunden altes Schweineserum, teils bei 18°, teils bei \div 16° aufbewahrt mit CO₂ in der Verdünnung a) $\frac{1}{10}$, b) $\frac{1}{10}$ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. E aus $\frac{1}{10}$ verdünntem Meerschweinchenserum gewonnen, 0,05 ccm hat keine Eigenhämolyse.

	M a auf 56° erhitzt							M b auf 56° erhitzt							
	nicht	2'	4'	6'	10'	20'	30'	nicht	2'	4'	6'	10'	20'	30'	
0,2	0	0	0	0	0	0	0	80	0	0	0	0	0	0	0,05 ccm E gleich zugesetzt
0,1	30	25	20	20	0	0	0	90	20	10	0	0	0	0	
0,05	40	60	35	10	0	0	0	100	80	30	20	20	0	0	
0,02	90	50	40	20	0	0	0	„	50	25	25	0	0	0	
0,01	100	„	„	0	20	0	0	„	60	10	0	0	0	0	
0,005	„	30	0	0	0	0	0	95	30	0	0	0	0	0	0,05 ccm E $\frac{1}{2}$ St. nach M
0,2	„	60	30	90	100	40	20	100	20	100	100	100	20	0	
0,1	„	90	100	100	„	20	16	„	80	„	„	90	6	0	
0,05	„	100	„	„	90	15	10	„	100	„	90	60	0	0	
0,02	„	„	„	90	70	10	6	„	„	90	40	30	0	0	
0,01	„	90	70	70	50	4	0	„	90	30	6	6	0	0	
0,005	„	60	30	20	0	0	0	„	70	0	0	0	0	0	

Hemmung. 0,013 ccm Meerschweinchenserum. Bindung 1 Stunde bei 37°.

M- Menge ccm	M a auf 56° erhitzt							M b auf 56° erhitzt							
	nicht	2'	4'	6'	10'	20'	30'	nicht	2'	4'	6'	10'	20'	30'	
0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	10	2 $\frac{1}{2}$ Ambo- zeptor- einheiten
0,2	0	0	0	0	0	6	10	0	0	0	0	6	50	40	
0,1	0	0	0	0	6	16	60	0	0	40	45	40	100	100	
0,05	0	10	6	8	14	50	90	10	40	70	80	80	„	„	
0,02	10	20	20	20	20	70	100	40	80	90	100	100	„	„	
0,01	20	40	50	50	40	90	100	80	90	100	100	100	„	„	10 Ambo- zeptor- einheiten
0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	20	
0,2	0	0	0	0	0	6	20	0	0	0	10	10	70	90	
0,1	0	0	0	10	20	20	70	0	0	50	50	50	100	100	
0,05	0	8	8	20	25	60	90	10	40	80	90	90	„	„	
0,02	12	18	25	60	60	80	100	45	50	90	100	100	„	„	
0,01	25	35	60	80	80	90	100	80	90	100	100	100	„	„	

Die Verhältnisse können nicht so ganz wenig variieren, so habe ich Sera untersucht, deren Globuline beim Erhitzen

auf 56°, aber nicht beim Stehen während 2 Stunden bei 37° in Verdünnung $\frac{1}{1}$ die Brandische Modifikation bildeten, dagegen nie das entgegengesetzte Verhältnis. Nur selten haben die Globuline gleich nach der Spaltung und Lösung hemmende Funktionen enthalten, mit einer Ausnahme hat es sich in solchen Fällen um Globuline aus 5-fach verdünntem Serum gehandelt. Wie frühere Untersucher gefunden haben, und wie auch aus den angeführten Versuchen hervorgeht, enthält das Schweineserum eine weit bessere Mittelstück- als Endstückfunktion, die letztere wird oft bei der Spaltung recht erheblich geschwächt. Die Mittelstückfunktion ist dagegen sehr stark, als solche vermögen Schweineserum und -globuline in weit größeren Verdünnungen als Meerschweinchglobuline zu wirken. Die Wirkung der Schweineglobuline ist wie die des ungespaltenen Serums von der verwendeten Ambozeptormenge recht abhängig. (Versuch 14.)

Versuch 14. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Frisches Schweineserum, mit Hammelblut behandelt, das keine Eigenhämolyse in Dosen 0,5 ccm hat, wird mit CO₂ in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst; mit 0,01 ccm Meerschweinchen-E (auf $\frac{1}{10}$ verdünntes Serum mit CO₂ gewonnen), das keine Eigenhämolyse besitzt, untersucht. Titer des gespaltenen Meerschweinchenserums (ää E + M) 0,008 ccm mit 2 bis 50 Ambozeptoreinheiten.

M-Menge ccm	Ambozeptoreinheiten					
	1	2	5	10	20	50
0,01	100	100	100	100	100	100
0,008	"	"	"	"	"	"
0,006	95	"	"	"	"	"
0,005	90	95	"	"	"	"
0,004	90	95	"	"	"	"
0,003	80	90	"	"	"	"
0,0025	70	85	95	"	"	"
0,002	50	80	90	"	"	"
0,0016	40	75	90	"	"	"
0,0013	40	75	85	95	95	"
0,001	35	70	80	95	95	95
0,0008	30	70	75	90	90	90
0	0	0	0	0	0	0

Wiederholte Versuche haben wesentlich denselben Erfolg ergeben, auch wenn das Serum mit Hammelblut nicht behandelt gewesen ist; da das Meerschweinchen-Endstück solche Variation nicht ergibt, muß die Ursache dieses Verlaufes auf

Eigenschaften der Schweineglobuline beruhen. Inwiefern der Erfolg dem Mittelstück selbst zu verdanken sei, ist hingegen recht zweifelhaft. Wie Fränkel mitgeteilt und ich übrigens in meinen Versuchen früher wahrgenommen habe, besitzt das Schweineserum eine ausgesprochene auxilytische Fähigkeit, und diese ist durchgehends stärker, je mehr Ambozeptor man verwendet, vgl. Jonas¹⁾, der fand, daß das Schweineserum eine sehr große Menge dritte Komponente enthält. Bei der Arbeit mit Fraktionen frischer Seren sind die Globuline immer im Besitz auxilytischer Fähigkeit gewesen, diese mag in den verschiedenen Seren recht bedeutend variieren, ist aber immer (in mehr als 20 Seren) deutlich ausgesprochen gewesen. Diese auxilytische Fähigkeit nimmt am häufigsten mit der Vermehrung der Ambozeptormenge zu (Versuch 15); der Einfluß ist an Stärke recht variierend, ein einziges Mal ist die Wirkung die entgegengesetzte gewesen (Uebergang hemmender Funktionen in der Globulinfraktion).

Versuch 15. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Frisches Schweineserum, unbehandelt, in Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst, hat keine Eigenhämolyse.

Meersch.- Serum ccm	Schweine- globulin ccm	Ambozeptoreinheiten				
		1	2	5	10	20
0,005	0,1	100	100	100	100	100
"	0,07	90	"	"	"	"
"	0,05	70	95	"	"	"
"	0,03	55	90	"	"	"
"	0,02	40	80	90	"	"
"	0,01	25	65	80	95	"
"	0,007	20	45	70	90	95
"	0,005	"	30	50	75	85
"	0,003	"	25	30	50	60
"	0,002	18	20	20	40	45
"	0,001	20	"	"	30	30
"	0	"	"	"	20	20

Die auxilytische Fähigkeit ist gewiß nicht eine Funktion der Normalambozeptoren, weil sie durch Behandlung des Serums mit Hammelblut nicht verschwindet und am häufigsten, wie in Versuch 16, kein Unterschied zwischen dem frischen und dem behandelten Serum nachzuweisen ist.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 17, p. 239.

Versuch 16. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,0008 ccm. Frisches Schweineserum wird in zwei Portionen geteilt: 1) wird 2 Stunden bei 0° mit Hammelblut behandelt, 2) steht dieselbe Zeit unbehandelt bei 0°. Beide werden dann in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Ohne Ambozeptor 0,2 ccm Serum 1 keine Hämolyse, 0,07 ccm Serum 2 noch komplette Hämolyse.

Meersch.- Serum ccm	Schweine-M		
	Menge ccm	No. 1	No. 2
0,007	0,1	100	100
"	0,07	"	"
"	0,05	"	"
"	0,03	"	"
"	0,02	"	"
"	0,01	"	"
"	0,007	"	"
"	0,005	90	90
"	0,003	85	80
"	0,002	75	75
"	0,001	60	60
"	0	60	60

Wahrscheinlich ist die auxilytische Fähigkeit auch nicht eine Funktion des „Mittelstückes“ selbst, teils ist sie im Gegensatz zu letzterem thermostabil (so bei 56°) oder in jedem Falle thermoresistenter, teils ist es mir durch Behandlung der Globuline mit sensibilisierten Blutkörperchen bisweilen gelungen, die „Mittelstück“-Funktion in größerer Ausdehnung als die auxilytische zu entfernen. In Globulinen aus älteren Seren ist die auxilytische Funktion verschwunden oder von der in dieser ausgebildeten Brandschen Modifikation überdeckt, diese Globuline wirken, wie aus den angeführten Versuchen hervorgeht, auf Meerschweinchenkomplement hemmend. Die Albuminfraktion hat dagegen, wie auch Fränkel angibt, wenn nicht inaktiviert, eine gewisse hemmende Wirkung auf Meerschweinchenkomplement, in meinen Versuchen hat sich diese Hemmung am häufigsten nur bei einer Beobachtung des Verlaufes ergeben. Während die Globuline die Reaktionsgeschwindigkeit vermehren, wird sie von den Albuminen oft sehr beträchtlich herabgemindert. Die Wirkung der Albumine ist von der Zusammensetzung des hämolytischen Systems recht abhängig. Fraktionen aus nicht mit Hammelblut behandeltem Serum hemmen z. B. stärker mit größeren Ambo-

zeptormengen als mit kleineren; im Endergebnis ist der Unterschied so wie im ganzen die Wirkung der Albumine oft nur wenig ausgesprochen, aber konstant anwesend, bei Beobachtung der Reaktionsgeschwindigkeit dagegen sehr deutlich. Die Wirkung mag auch von der verwendeten Komplementmenge abhängig sein, indem die Hämolyse von einer geringeren Komplementmenge vermehrt, von einer größeren herabgemindert werden kann. Durch Behandlung mit roten Blutkörperchen kann die hemmende Funktion entfernt werden, obschon in meinen Versuchen fast niemals total; mit solchen Albuminen ist die Ambozeptormenge ohne Bedeutung. Die Funktion, welche in ungespaltenem Schweineserum dem Immunambozeptor entgegenwirkt, kann infolgedessen mit den Normalambozeptoren nicht identisch sein, weil diese mit den Globulinen ausgefällt werden und nach der Spaltung nicht die Globuline, sondern die Albumine die hemmende Funktion besitzen. Hieraus folgt ferner, daß rote Blutkörperchen nicht nur Ambozeptoren und Agglutinine, sondern auch Funktionen ohne eigentlichen Antikörpercharakter entfernen können [vgl. Sachs¹⁾ und Rossi²⁾].

Menschen serum.

Wie die meisten anderen Sera enthält das Menschen serum, mit dem von mir verwendeten Systeme untersucht, weit mehr „Mittelstück“ als „Endstück“. Das „Endstück“ ist wie das des Schweineserums labiler als Meerschweinchen-„Endstück“. So ist die Wirkung nach der Spaltung immer schwächer als in dem ursprünglichen Komplemente gewesen. Ob dies einer eigentlichen Schwächung des „Endstückes“ zu verdanken sei, ist jedoch in betreff des Menschen serums sowie in betreff mehrerer anderer Sera recht zweifelhaft. Der Erfolg wäre nämlich derselbe, wenn sich bei der Spaltung hemmende Funktionen entwickelten, und, wie bekannt, entstehen solche sehr leicht im Menschen serum. Hemmende Funktionen finden sich nicht nur in den Globulinen, sondern auch in den Albu-

1) Kraus und Levaditis Handb., Jena 1909.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 10, 1911, p. 321.

minen; so sieht man oft, was auch Rondoni¹⁾ erwähnt, daß größere Mengen Menschenalbumin schlechter als kleinere wirken, eine Erscheinung, die ich mit Meerschweinchenserum nie wahrgenommen habe. Auf ungespaltenes Meerschweinchenserum wirken die frisch gewonnenen, nicht inaktivierten Fraktionen aus Menschenserum hemmend, nach der Inaktivierung hat das Albumin bisweilen eine geringe fördernde Wirkung, das Globulin keine Wirkung.

Versuch 17. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Frisches Menschenserum in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{10}$ gelöst.

Meersch.- Serum ccm	Menge Zusatz ccm	Albumin		Globulin	
		nicht erhitzt	10' auf 56° erhitzt	nicht erhitzt	10' auf 56° erhitzt
0,01	0,1	6	75	10	50
"	0,05	10	65	20	50
"	0,02	30	50	25	50
"	0,01	35	50	40	50
"	0	50	50	50	50

Die fördernde Wirkung inaktivierter Albumine zeigt sich oft deutlicher dem Menschenkomplemente als dem Meerschweinchekomplemente gegenüber. Wenn sich beim Lagern hemmende Funktionen in aktivem Serum gebildet haben, so ist die Komplementfunktion in der Regel verschwunden; nicht selten kann man jedoch der anscheinend paradoxen Erscheinung begegnen, daß Serummengen, welche allein eine nicht unbedeutende Hämolyse hervorrufen können, mit der Titerdosis Meerschweinchenserum nicht nur keine totale, sondern sogar geringere Hämolyse als die verwendete Menge Menschenserum allein erzeugen [vgl. Cernovodéanu und Henri²⁾]. Die Globuline sind dazu sehr geneigt, hemmende Funktionen von dem nämlichen Typus wie die Brandsche Modifikation zu bilden. In der Regel ist diese Modifikation sogleich nach der Lösung in den Globulinen, welche mit CO_2 in 5-fach verdünntem Serum oder durch Dialyse gewonnen waren, anwesend. In betreff der Umbildungsgeschwindigkeit sind die

1) La Clin. Med. Ital., Vol. 50, 1911, p. 389. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, Ref.-No. 2552.

2) Compt. rend. de la Soc. Biol., T. 58, 1905, p. 855. und T. 61, 1907, p. 741.

Bedingungen übrigens, wie schon von Thomsen und mir erwiesen, dieselben wie im Meerschweinchenserum (vgl. Versuch 18). Die Menschenglobuline werden nur weit schneller als Meerschweinchenglobuline umgebildet, in Menschenglobulinen aus 20-fach verdünntem Serum geht die Umbildung mit ungefähr derselben Geschwindigkeit wie in Meerschweinchenglobulinen aus 10-fach verdünntem Serum vor sich, und in Menschenglobulinen aus 10-fach verdünntem Serum mit etwa derselben Geschwindigkeit wie in Meerschweinchenglobulinen aus 5-fach verdünntem Serum. In Menschenglobulinen aus 10-fach ver-

Versuch 18. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 10-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm. Menschenserum (Titer mit 2, 10 und 20 Ambozeptoreinheiten 0,1 ccm) mit CO₂ gespalten in der Verdünnung a) $\frac{1}{5}$, b) $\frac{1}{10}$, c) $\frac{1}{20}$. M $\frac{1}{1}$ gelöst, ein Teil gleich auf $\frac{1}{10}$ verdünnt. Die Proben werden sowohl bei 16° als bei 37° gehalten.

E = 0,02 ccm Meerschweinchen-E (aus 10-fach verdünntem Serum), das keine Eigenhämolyse hat.

M-Menge ccm	E gleich zugesetzt						E 1 Std. nach M						
	Verd. $\frac{1}{1}$			Verd. $\frac{1}{10}$			Verd. $\frac{1}{1}$			Verd. $\frac{1}{10}$			
	M	a	M b M c	M	a	M b M c	M	a	M b M c	M	b	M b M c	
0,2	.	.	.	10	100	100	.	.	.	90	100	100	} Gleich nach der Lösung der Globuline
0,15	.	.	.	10	"	"	.	.	.	70	"	"	
0,1	.	.	.	20	"	"	.	.	.	50	"	"	
0,07	.	.	.	10	"	"	.	.	.	40	"	"	
0,05	.	.	.	0	"	"	.	.	.	20	"	"	
0,03	.	.	.	0	"	"	.	.	.	10	"	"	
0,01	.	.	.	0	"	"	.	.	.	0	"	"	
0,01	.	.	.	0	90	90	.	.	.	0	90	90	
0,2	0	100	100	0	100	100	50	100	100	70	100	100	} Nachdem die Globulin- lösungen 2 Std. bei 16° gestanden
0,15	0	"	"	0	"	"	40	"	"	60	"	"	
0,1	0	"	"	0	"	"	30	"	"	45	"	"	
0,07	0	"	"	0	"	"	20	"	"	35	"	"	
0,05	0	"	"	0	"	"	10	"	"	20	"	"	
0,03	0	"	"	0	"	"	6	"	"	6	"	"	
0,02	0	90	"	0	"	"	0	90	"	0	"	"	
0,01	0	70	90	0	90	90	0	70	90	0	90	90	
0,2	0	0	90	0	20	100	20	100	100	40	100	100	} Nachdem die Globulin- lösungen 2 Std. bei 37° gestanden
0,15	0	0	90	0	40	"	20	"	"	25	"	"	
0,1	0	0	90	0	80	"	10	"	"	16	"	"	
0,07	0	0	80	0	90	"	0	90	"	6	"	"	
0,05	0	0	80	0	90	"	0	80	"	0	95	"	
0,03	0	0	70	0	70	"	0	70	"	0	90	"	
0,02	0	0	70	0	50	"	0	50	90	0	60	"	
0,01	0	0	70	0	20	90	0	20	90	0	30	90	

dünntem Serum bilden sich in der Regel hemmende Funktionen bei 2-stündigem Stehen bei 37° und bei Erwärmung auf 56°.

Für die von Globulinen auf Meerschweinchenkomplement ausgeübte hemmende Wirkung spielt die Ambozeptormenge ebensowenig wie für die Wassermannsche Reaktion (Thomsen, l. c.) eine große Rolle, jedenfalls wenn die Globuline mit dem Komplemente 1 Stunde digeriert werden (Versuch 19).

Versuch 19. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut-aufschwemmung und Komplementtiter (0,015 ccm) Meerschweinchen-serum. Menschenserum mit CO₂ gespalten in Verdünnung $\frac{1}{8}$, M $\frac{1}{1}$ gelöst und sogleich auf 56° die angegebene Zeit erhitzt. Die Hemmung sowohl ohne als mit Bindung (1 Stunde bei 37°) untersucht.

Globulin		Ohne Bindung			Mit Bindung		
auf 56° erhitzt	Menge ccm	Ambozeptoreinheiten			Ambozeptoreinheiten		
		2 $\frac{1}{2}$	5	20	2 $\frac{1}{2}$	5	20
nicht	0,2	0	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	10	30	0	0	0
	0,02	20	40	90	0	0	0
	0,01	50	80	100	0	0	0
2'	0,2	0	0	0	0	0	0
	0,1	10	20	30	0	0	0
	0,05	40	50	80	0	0	0
	0,02	70	90	100	10	10	10
	0,01	100	100	"	40	50	40
4'	0,005	100	100	"	90	90	90
	0,2	0	20	20	0	0	0
	0,1	40	50	60	0	0	0
	0,05	80	90	90	10	20	16
	0,02	90	100	100	40	60	60
6'	0,01	100	100	100	80	90	90
	0,2	70	80	70	0	0	0
	0,1	80	90	90	10	10	10
	0,05	90	100	100	30	35	35
	0,02	100	"	"	70	70	75
10'	0,01	100	"	"	80	80	90
	0,2	80	90	90	10	12	10
	0,1	95	100	100	30	25	30
	0,05	100	"	"	60	60	80
	0,02	"	"	"	90	90	90
20'	0,01	"	"	"	100	100	100
	0,2	80	90	100	80	70	80
	0,1	90	100	"	90	90	95
	0,05	100	100	"	100	100	100

Interessant sind in dieser Verbindung einige Versuche von Dean¹⁾, in welchen er zeigt, daß ein Zusatz von Komplement in solchen Mischungen von Antigenen mit präzipitierenden Seren, welche allein Niederschlag nicht erzeugen, Präzipitation hervorrufen kann. In denselben Mengen bewirken diese Mischungen auch Komplementbindung, diese wäre reversibel oder irreversibel, der Temperatur gemäß, bei welcher er arbeitete, reversibel nur, wenn der Versuch bei 0° angestellt wurde; gleichzeitig schwand auch etwas von der Endstückfunktion [wie in Gengous²⁾ Versuchen], dieses gelang ihm aber nicht wieder zu gewinnen. Da ein stärkeres hämolytisches System in höherem Maße als ein schwaches reversibel gebundenes Komplement (Mittelstück) loszureißen vermögen wird, mag die Ursache verschiedener Differenzen wohl schon in einer je nach den Versuchsbedingungen mit verschiedener Geschwindigkeit eintretenden Irreversibilität gesucht werden, um so mehr, weil die Temperatur kaum das einzige Moment sei, welches in dieser Beziehung von Bedeutung sei.

Endlich mag noch angeführt werden, daß ich in inaktivierten ($\frac{1}{2}$ Stunde 56°) Globulinen eine Mittelstückfunktion nie mit Sicherheit habe nachweisen können, und daß Menschenalbumine sowohl mit Schweine- als mit Meerschweinenglobulin imstande gewesen sind, Hämolyse hervorzurufen.

Kaninchenserum.

Landsteiner³⁾ und Liefmann⁴⁾ haben zuerst erwähnt, daß das Kaninchenserum ein gut wirkendes Mittelstück enthalte. Braun⁵⁾ bestätigte dies und gab ferner an, das Endstück werde leicht geschwächt. Fränkel⁶⁾ machte ausfindig, daß Globuline bei 24-stündigem Stehen dergestalt umgebildet würde, daß weder gleichzeitige noch spätere Hinzusetzung von Endstück-Hämolyse hervorriefen, und große Mengen Albumin und Globulin hemmend wirkten, kleinere Mengen fördernd auf Hämolyse mit ungespaltenem Meerschweinchenkomplement.

- 1) Journ. of Hyg., Vol. 12, 1912, p. 259.
- 2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, p. 344 und Bd. 11, 1911, p. 1.
- 3) Freie Ver. f. Mikrobiol. 4. Tag. Berlin 1910. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 47, Beih. p. 88.
- 4) Centralbl. f. Bakt. Ref., Bd. 47, 1910, Beih., p. 87.
- 5) Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, p. 65.
- 6) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, 1911, p. 781 und Bd. 10, p. 388.

Wie die erwähnten Verfasser habe auch ich gefunden, daß Kaninchen-Endstück überaus leicht destruiert wird sowohl beim Stehen als auch bei der Spaltung. Am charakteristischsten für Kaninchenserum ist jedoch nach meinen Untersuchungen die sehr große Neigung der Globuline, hemmende Funktionen zu bilden. Noch schneller und in noch größerem Umfange als in Menschenglobulinen wird in den Globulinen die Brandsche Modifikation gebildet. Globulin, welches 24 Stunden in Lösung selbst bei 0° gestanden hat, ist mir in der Regel zu aktivieren nicht gelungen, dagegen wirken sie sehr stark hemmend. In meinen Versuchen habe ich immer ähnliche Resultate wie im Versuch erhalten.

Versuch 20. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut-aufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,002 ccm. Kaninchenserum mit CO₂ gespalten, in Verdünnung 1) $\frac{1}{6}$, 2) $\frac{1}{10}$, 3) $\frac{1}{20}$. Meerschweinchen-E aus $\frac{1}{10}$ verdünntem Serum. 0,1 ccm hat keine Eigenhämolyse.

Eigenhämolyse	Ambozeptoreinheiten		
E No. 1	2	5	20
0,2 ccm	100	100	100
0,1 "	"	"	"
0,08 "	80	"	"
0,06 "	60	90	95

Die M- und die anderen E-Fractionen haben keine Eigenhämolyse.

M-Menge ccm	0,1 ccm Kaninchen-E						0,1 ccm Meersch.-E					
	gleich zuges.			1 Std. n. M			gleich zuges.			1 Std. n. M		
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃
0,2	0	10	100	100	100	100	0	20	100	100	100	100
0,16	0	12	"	90	"	"	0	18	"	90	"	"
0,13	0	10	"	60	"	"	0	"	"	60	"	"
0,1	0	16	"	50	"	"	0	20	"	60	"	"
0,08	0	20	"	30	"	90	0	25	"	45	"	"
0,06	0	10	90	10	90	80	6	18	"	30	90	90
0,05	0	10	"		70	70	0	16	"	16	60	70
0,04	0	0	"		60	50	0	10	"	6	50	50

E No. 2 ccm	M No. 3					
	0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01
0,1	100	100	100	100	100	95
0,07	"	"	"	"	"	90
0,05	60	60	50	45	45	35
0,03	40	35	35	35	20	16
0,02	25	30	30	16	16	6
0,01	4	2	0	0	6	0

E + M āā		E gleich			E 1 Std. n. M		
Menge ccm	No.	Ambozeptoreinheiten			Ambozeptoreinheiten		
		2	5	20	2	5	20
0,2	1	100	100	100	0	40	60
0,16	.	"	"	"	0	45	100
0,13	.	"	"	"	6	50	"
0,1	.	90	90	"	12	20	"
0,02	.	45	50	75	16	20	90
0,06	.	16	25	40	4	10	70
0,1	2	10	40	60	0	60	100
0,08	.	6	12	25	0	30	"
0,06	.	0	0	6	0	6	80

Versuch 21. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut-aufschwemmung. Das verwendete Ambozeptorserum (Titer 0,0002 ccm) ergibt in einer Menge von 100 Einheiten keine Eigenhämolyse. Serum von unbehandelten Kaninchen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert. 0,1 ccm gibt keine Hämolyse mit 1–100 Ambozeptoreinheiten. Meerschweinchenserum mit CO₂ in Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten.

Meer- schwein- chen-E	Kein Zusatz							+ so viel Normalkaninchen- serum, daß in allen Röhr- chen 0,3 ccm Kaninchen- serum						
	Ambozeptoreinheiten							Ambozeptoreinheiten						
	ccm	1	2	5	10	20	50	100	1	2	5	10	20	50
	0,1	0	0	50	60	100	100	100	20	30	90	100	100	100
	0,07	0	0	40	50	"	"	"	10	20	70	"	"	"
	0,05	0	0	25	45	70	"	"	4	12	40	90	"	"
	0,03	0	0	16	30	40	50	45	0	4	20	50	70	"
	0,02	0	0	6	12	20	20	12	0	0	6	10	60	90
	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	40

Inaktiviertes Normal- kaninchen-serum	Meerschweinchen-E	Ambozeptoreinheiten	
ccm	ccm	10	20
0,1	0,05	50	80
0,07	"	70	80
0,05	"	70	90
0,03	"	80	100
0,02	"	80	100
0,01	"	50	70

Als Zusammenfassung mag gesagt werden: Bei Spaltung des 5-fach verdünnten Serums behält die Albuminfraktion öfters dieselbe hämolytische Fähigkeit wie das Serum, die Globuline hemmen immer, können bisweilen als Mittel-

stück wirken. Gleichzeitiger Zusatz der Fraktionen kann (Versuch 20) geringere Hämolyse als die Albuminfraktion allein ergeben und späterer Zusatz von Endstück mit kleinen Ambozeptormengen noch geringere Hämolyse. Aus 10-fach verdünntem Serum gewonnen, haben die Albumine keine oder geringe Eigenhämolyse, wirken mehr oder weniger gut als Endstück. Die Globuline vermögen besser als die im 5-fach verdünnten Serum niedergeschlagenen als Mittelstück zu wirken, am besten mit größeren Ambozeptormengen, beim Lagern wird sehr schnell die Brandsche Modifikation gebildet. Globuline aus 20-fach verdünntem Serum verhalten sich in betreff hemmender Funktionen ungefähr wie Menschenglobuline aus 10-fach verdünntem Serum. Auf ungespaltenes Komplement (Meerschweinchen und Kaninchen) wirken die nicht inaktivierten Globuline hemmend, die Albumine besitzen, dem Kaninchenkomplement gegenüber, sowohl aktiv als inaktiviert eine fördernde Wirkung, die Hämolyse von Meerschweinchenkomplement (und Endstück allein) wird von kleineren Mengen gefördert, von größeren gehemmt.

Katzen serum enthält eine nur wenig wirksame Albuminfraktion, dagegen eine gut wirkende Globulinfraktion, welche hemmende Funktionen zu bilden, nur sehr wenig geneigt ist. Von den 4 Seren, die ich untersucht habe, hat nur eins die Brandsche Modifikation, eben nur in geringem Maße, gebildet. Auf Meerschweinchenkomplement wirken inaktiviertes Serum, Albumin und Globulin fördernd, besonders das Globulin, am stärksten bei Verwendung von schwach sensibilisierten Blutkörperchen. In nichtinaktiviertem Zustande hemmen die Albumine immer, die Globuline in großen Mengen, während sie in geringeren fördernd wirken. Katzenserum zeigt daher ähnliche Verhältnisse wie Schweineserum.

Versuch 22. Volumen 2,5 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, teils mit $2\frac{1}{2}$, teils mit 10 Ambozeptoreinheiten sensibilisiert. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm. Katzenserum (Titer 0,13 ccm) mit CO_2 gespalten, in Verdünnung 1) $\frac{1}{5}$, 2) $\frac{1}{20}$. M $\frac{1}{1}$ gelöst, ein Teil gleich auf $\frac{1}{10}$ verdünnt, von allen Lösungen Proben 4 Stunden bei 18° und 2 Stunden bei 37° belassen. E = 0,1 ccm Meerschweinchen-E (aus 10-fach verdünntem Serum), das keine Eigenhämolyse ergibt. M gleich nach der Lösung für 1) und 2) = 0,007 ccm.

10 Ambozeptoreinheiten																
M- Menge	E gleich								E 1/2 Stunde nach M							
	M No. 1				M No. 2				M No. 1				M No. 2			
	1/1	1/10	1/1	1/10	1/1	1/10	1/1	1/10	1/1	1/10	1/1	1/10	1/1	1/10		
ccm	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'	18° 37'		
0.1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
0.07	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"		
0.05	"	70	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"		
0.03	"	50	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"		
0.02	90	20	96	90	"	60	"	80	"	"	"	"	"	"		
0.01	70	0	90	40	"	30	"	50	"	"	"	"	"	"		
0.007	50	0	70	10	"	0	"	20	90	80	90	90	"	80		

Meersch.-Serum ccm	Menge Zusatz ccm	2 1/2 Ambozeptoreinheiten						10 Ambozeptoreinheiten					
		Inakt. Serum	Glob. 2		Album. 2		Inakt. Serum	Glob. 2		Album. 2		Inakt. Serum	Menge Zusatz ccm
			aktiv	inaktiv	aktiv	inaktiv		aktiv	inaktiv	aktiv	inaktiv		
0.005	0.2	100	20	100	10	40	100	20	90	.	.		
"	0.1	"	25	"	20	40	100	25	"	12	40		
"	0.05	"	30	"	12	30	90	25	"	12	40		
"	0.02	"	35	80	16	20	70	20	80	16	30		
"	0.01	90	25	30	18	20	50	16	50	20	20		
"	0.005	80	16	20	18	16	30	11	30	"	18		
"	0.002	50	18	20	20	"	20	18	20	"	"		
"	0.001	20	18	18	20	"	20	18	20	"	"		
"	0	16	16	16	18	"	16	16	16	16	16		

Hundeserum.

Shibayama¹⁾ und Tsurusaki²⁾ gaben an, bei Dialyse werde Hundekomplement komplett destruiert und könne durch Salz nicht reaktiviert werden, ebenfalls werde sich Inaktivierung bei der von Sachs und Teruuchi angegebenen Methode ergeben [Tsurusaki²⁾]. Fränkel (l. c.) äußert nur, das Hundeserum verhalte sich, wie Schweineserum.

Nach meinen Untersuchungen gleicht das Hundeserum weit mehr dem Kaninchenserum. In Versuchen mit 5 Seren habe ich wahrgenommen, daß die Endstückfunktion sehr leicht bei der Spaltung sowohl nach Liefmanns als auch nach Sachs' und Altmanns Methode zugrunde geht oder jedenfalls sehr geschwächt wird. Die Globuline bilden leicht hem-

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 30, 1901, p. 760.

2) Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 345.

mende Funktionen und sind meist nach dem Stehen in Lösung selbst bei späterem Zusatz der Albumine nicht zu aktivieren. Meerschweinchenkomplement wird von den Globulinen gehemmt, von den Albuminen in gewissen Dosen ein wenig gefördert. Es ist überflüssig, Versuche zu reproduzieren, da sie ganz wie Versuche mit Kaninchenserum ausgefallen sind.

Hammelserum.

Liefmann und Stutzer¹⁾ geben an, dieses Serum wirke, besonders wenn nicht inaktiviert, auf Meerschweinchen Serum hemmend (Hämolyse von Hammelblutkörperchen). Diese Hemmung wäre den Globulinen zu verdanken und wäre gegen das Meerschweinchen-Mittelstück gerichtet, weil Hammelglobulin mit Meerschweinchen-Endstück gute Hämolyse ergebe. Braun (l. c.) fand ein gutes Mittelstück, aber kein Endstück. Marks (l. c.) macht die nämliche Angabe, fügt ferner hinzu, die Hammelglobuline bilden die Brand'sche Modifikation bei 24-stündigem Stehen in Kochsalzlösung nicht, und die Funktion werde bei $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 56° nur auf ungefähr $\frac{1}{10}$ abgeschwächt, und große Endstückungen sollen verwendet werden, cfr. Surface und Routt²⁾.

Nur in gewissem Maße habe ich die zitierten Angaben bestätigen können, in vielen Punkten habe ich ganz andere Ergebnisse erhalten.

Als Komplement hat das Hammelserum, wenn auch sehr schwach, gewirkt, Endstück-Funktion muß es daher enthalten, die Wirkung vermehrt sich mit steigender Ambozeptormenge, nach der Spaltung habe ich dagegen Endstück nicht nachweisen können. Nur in einem einzigen Versuche (No. 23) habe ich eine gute Mittelstückwirkung der Globuline erhalten, das betreffende Serum war nach Sachs und Altmann gespalten. Alle anderen zahlreichen Versuche haben mir nur schlechte oder keine nachweisbare Mittelstückfunktion der Globuline ergeben. Auch bei Zusatz von Meerschweinchen-Endstück zu ungespaltenem Hammelserum habe ich keine gute Hämolyse bekommen, die Ergebnisse sind doch am häufigsten ebenso gut, wie bei Verwendung der Globulinfraktionen gewesen. Gleichzeitiger Zusatz hat immer die besten Ergebnisse herbeigeführt, von Brand'scher Modifikation kann

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 56, 1910, p. 526.

2) Journ. of med. Res., 1913, Aug. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., 1913, No. 1669.

also keine Rede sein, und die Wirkung hat mit steigenden Ambozeptor- und Endstückmengen zugenommen. Die hämolytische Wirkung ist, besonders mit geringen Ambozeptormengen, mit mittelgroßen Globulinmengen am besten. Im Gegensatz zu den bisher erwähnten Seren wirken von den Hammelglobulinen diejenigen am besten, welche mit Kohlensäure aus 5-fach verdünntem Serum niedergeschlagen sind. Mit $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktivierten Globulinen habe ich eine Wirkung nie erhalten. Worauf es beruht, daß ich von Hammelglobulinen weit schlechtere Wirkung als andere erhalten habe, kann ich nicht entscheiden.

In mehreren der veröffentlichten Versuche, z. B. denjenigen Marks', scheint es mir nicht unwahrscheinlich, daß eine (nicht wahrgenommene) Eigenhämolysen als eine Mittelstückwirkung der Hammelglobuline erschien, Marks hat seine Kontrolle nur 1 Stunde beobachtet. Wie früher auseinandergesetzt, tritt Eigenhämolysen häufig sehr langsam ein, vgl. auch Versuch 23, wo die verwendeten Endstückmengen nach 2 Stunden keine Hämolysen hervorgerufen hatten, nach 24 Stunden jedoch Hämolysen 50 resp. 10 erzeugten.

Versuch 23. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 10-fach sensibilisierte (und zweimal gewaschene) 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Hammelserum nach Sachs und Altmann gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst und mit E aus 10-fach verdünntem Meerschweinchenserum untersucht.

Hammel-M	+ 0,03 ccm E	0,1 ccm E
ccm	sogleich $\frac{1}{2}$ Std. n. M	sogleich
0,5	10	100
0,2	40	20
0,1	50	25
0,05	90	40
0,02	100	50
0,01	"	50
0,005	"	40
0,002	"	40
0,001	90	20
0,0005	80	0
0,0002	50	0
0,0001	30	0

Kontrolle.

0,1 ccm E	nach 2 Stunden	0, nach 24 Stunden	50
0,03 " E	" 2 " 0	" 24 "	10
0,5 " M	" 2 " 0	" 24 "	0
0,1 " M	" 2 " 0	" 24 "	0

Versuch 24. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut-aufschwemmung, mit den angegebenen Ambozeptormengen sensibilisiert und zweimal gewaschen. E aus 10-fach verdünntem Meerschweinchenserum mit CO₂ gewonnen, 0,1 ccm gibt allein nach 24 Stunden keine Hämolyse. Hammelserum in Verdünnung $\frac{1}{8}$ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst.

Hammel- blut- serum ccm	Ambo- zeptor- einheiten	allein	+ 0,03 ccm E		+ 0,1 ccm E	
			sofort	1 Std. später	sofort	1 Std. später
0,2	10	0	100	0	100	0
0,1	"	0	80	0	"	0
0,07	"	0	40	0	"	0
0,05	"	0	20	0	"	0
0,03	"	0	0	0	90	0
0,02	"	0	0	0	60	0

Hammel- serum	+ 0,04 ccm E sofort		Hammel- M	+ 0,02 ccm E sofort		+ 0,04 ccm E sofort	
	Ambozeptor- einheiten			Ambozeptor- einheiten		Ambozeptor- einheiten	
	5	10		5	10	5	10
ccm							
0,5	80	100	0,5	0	70	0	100
0,3	40	100	0,3	0	60	40	100
0,2	25	90	0,2	0	45	20	90
0,1	12	80	0,1	0	40	16	75
0,07	6	70	0,07	0	25	10	65
0,05	0	60	0,05	0	12	0	45
0,03	0	50	0,03	0	6	0	40
0,02	0	40	0,02	0	0	0	35
0,01	0	30	0,01	0	0	0	25
0,007	0	25	0,007	0	0	0	14
0,005	0	18	0,005	0	0	0	6
0,003	0	14	0,003	0	0	0	0
0,002	0	10	0,002	0	0	0	0

Auf das Meerschweinchenkomplement wirkt aktives Serum hemmend, am stärksten in mittleren Dosen, inaktiviertes bisweilen ein wenig fördernd. Aktive Globuline, besonders diejenigen, die in stärkerer Verdünnung niedergeschlagen, wirken hemmend, ebenfalls die Albumine; nach der Inaktivierung sind die Fraktionen am häufigsten ohne Wirkung, bisweilen fördern die Albumine die Hämolyse ganz wenig.

Rinderserum.

Ueber dieses Serum liegen mehrere Untersuchungen in der Literatur vor.

Von denjenigen, welche die hier behandelten Fragen betreffen, mag zitiert werden, daß Braun (l. c.) und Marks (l. c.) das Mittelstück gut, Fränkel (l. c.) dagegen schlecht fanden, das Endstück sei nach allen Aussagen schlecht resp. unwirksam. Fränkel gibt weiter an, in großen Dosen wäre Rinderserum vor aber nicht nach der Inaktivierung für das Meerschweinchenkomplement hemmend. Marks gibt an, daß die Globuline durch 24-stündiges Stehen in Kochsalzlösung nicht umgebildet werden.

Nach meinen Untersuchungen verhält sich Rinderserum wie Hammelserum, jedoch ist die Hemmung Meerschweinchenkomplement gegenüber weniger und die fördernde Wirkung mehr ausgesprochen. Die hämolytische Wirkung ungespaltenen Serums wird von aufsteigenden Ambozeptormengen und bei Zusatz von Meerschweinchenalbumin vermehrt. Die Hämolyse ist sowohl mit Serum als mit Globulinen am besten, wenn das Endstück sogleich zugesetzt wird, und die Mittelstückfunktion ist am stärksten in den aus 5-fach verdünntem Serum niedergeschlagenen Globulinen, schwindet beim Stehen der Globuline leicht, eine eigentliche Brand'sche Modifikation kann aber nicht nachgewiesen werden.

Versuch 25. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Rinderserum mit CO₂ gespalten, in Verdünnung 1) $\frac{1}{5}$, 2) $\frac{1}{10}$, 3) $\frac{1}{20}$, M $\frac{1}{10}$ gelöst. E = 0,03 Meerschweinchen-Endstück (aus 10-fach verdünntem Serum), das keine Hämolyse nach 24 Stunden ergibt.

M-Menge ccm	2 $\frac{1}{2}$ Ambozeptoreinheiten						10 Ambozeptoreinheiten					
	E gleich			E $\frac{1}{2}$ Std. n. M			E gleich			E $\frac{1}{2}$ Std. n. M		
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃	M ₁	M ₂	M ₃
0,3	80	30	20	30	20	20	50	20	40	20	0	0
0,2	90	40	40	70	40	0	70	40	„	50	0	0
0,1	100	70	60	90	50	0	90	70	„	80	50	0
0,07	„	70	70	100	90	20	100	„	„	90	90	30
0,05	„	80	80	100	100	40	100	„	70	100	100	50
0,03	90	70	90	80	100	80	90	100	80	100	90	80
0,02	80	„	80	75	60	70	90	60	60	90	80	90
0,01	70	„	70	70	50	60	80	50	40	80	60	80

Zusammenfassung.

Schweineserum wirkt, ungespalten, als Komplement gut, enthält gewöhnlich viel Normalambozeptoren. Wenn diese nicht entfernt werden, verursacht ein Zusatz von Immunambozeptor eine Verlängerung der Hämolysezeit. Bei der Spaltung wird die Albuminfunktion öfters geschwächt, die

Globulinfunktion ist sehr stark. Die hämolytische Wirkung der Globuline sowie die des genuinen Serums ist von der verwendeten Ambozeptormenge recht abhängig. Die Globuline bilden nur langsam hemmende Funktionen, jedoch schneller, wenn das Serum nicht mehr frisch ist. Wenn die Globuline nicht umgebildet sind, wirken sie auf die Hämolyse mit Meer-schweinchenkomplement fördernd, diese Wirkung ist nicht dem Gehalt an Ambozeptoren zu verdanken; die Albumine wirken dagegen hemmend, diese hemmende Funktion wird von Hammelblutkörperchen gebunden, ist jedoch nicht mit dem Normalambozeptor identisch.

Menschenserum vermag auch gut als Komplement zu wirken, und diese Wirkung ist von der Ambozeptormenge nicht hochgradig abhängig. In Menschenserum und dessen Fraktionen werden sehr leicht hemmende Funktionen gebildet, das Endstück ist recht schwach, das Mittelstück dagegen ganz gut.

Kaninchen- und Hundeserum haben dieselben Ergebnisse wie Menschenserum ergeben, Katzenserum dagegen ähnliche Ergebnisse wie Schweineserum. Alle diese Sera bilden typische Brandsche Modifikationen, die Bedingungen für die Entwicklung dieser Modifikation sind dieselben wie die bei Meer-schweinchen-serum näher erörterten, jedoch ist die Tendenz der Globuline, umgebildet zu werden, recht verschieden, und zwar etwa in folgender Reihe zunehmend: Schwein, Katze, Meerschweinchen, Mensch, Hund, Kaninchen.

Die Sera von Schaf, Rind und Ziege besitzen nur geringe Komplementwirkung, sowohl Endstück- als Mittelstückfunktion ist nur in Spuren vorhanden. Inaktives Rinderserum und in etwas geringerem Maße auch Ziegenserum fördert die Hämolyse mit Meerschweinchenkomplement, die Globuline von diesen Seren wirken dagegen hemmend. Eine eigentliche Brandsche Modifikation hat sich nicht nachweisen lassen.

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts
der Universität Berlin.]

Ueber die Einwirkung einiger Chininderivate auf den Schweinerotlauf-Bacillus.

Von **A. Loeser.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. Oktober 1915.)

Seitdem neben die Serotherapie bei bakteriellen Infektionen auch die Chemotherapie getreten ist, war man bemüht, solche chemische Agentien zu gewinnen, die eine spezifische desinfizierende Wirkung auf bestimmte Infektionserreger entfalten könnten. So haben Morgenroth und seine Mitarbeiter unter den Chinaalkaloiden in dem Aethylhydrocuprein (Optochin) ein Mittel gefunden, das eine spezifische Desinfektionswirkung gegenüber den Pneumokokken¹⁾ besitzt. Auf diese wirkt es *in vitro* wie auch im Tierversuch im Gegensatz zu anderen allgemeinen Antiseptics elektiv. Im Reagenzglas tötet es in den Konzentrationen von 1:500 000 bis 1:1 Million die Pneumokokken ab.

Es lag nahe, zu untersuchen, ob dieses Chininderivat eine ähnlich hervorragende desinfizierende Wirkung auch anderen bakteriellen Infektionserregern gegenüber zeige; so habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Morgenroth seine Wirkung auf den Bacillus des Schweinerotlaufs untersucht und zum Vergleich eine Anzahl verwandter Derivate herangezogen.

Von Bierbaum²⁾ ist schon in Ehrlichs Laboratorium festgestellt worden, daß eine einzige intravenöse Applikation von Salvarsan die mit Schweinerotlauf infizierten Mäuse — Infektion und Salvarsanbehandlung geschah gleichzeitig — noch retten kann; mehrmalige Salvarsaninjektion rettete Mäuse noch, nachdem die Infektion schon 24 Stunden vorher erfolgt war. Ein gutes Resultat erzielte derselbe Autor auch bei gleichzeitiger Anwendung von Salvarsan und Immunsrum, wobei letzteres in einer Menge, die weit unter der heilenden Dosis lag, angewandt wurde.

1) Siehe die zusammenfassende Darstellung und Literaturangaben Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 47 u. 48.

2) Bierbaum, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 43.

Neufeld und Schiemann¹⁾ sahen gar keine Beeinflussung der Rotlaufinfektion durch die Anwendung des Aethylhydrocupreins als freie Base oder Ester, selbst bei wiederholter Einspritzung des Heilmittels; auch hier fanden Infektion und Behandlung gleichzeitig statt.

Schiemann und Ishiwara²⁾ haben in Neufelds Laboratorium eingehende Versuche über die Beeinflussung von Rotlaufbacillen durch verschiedene chemische Agentien in vitro, und zwar in verschiedenartigen Medien, in aktivem und inaktivem Kaninchenserum wie in Bouillon, vorgenommen. Die Technik dieser Versuche bestand darin, daß $\frac{1}{100}$ Tropfen einer 24-stündigen Bouillonkultur eingesät wurde in 1 ccm der verschiedenen Verdünnungen der einzelnen Agentien. Es zeigte sich, daß das Optochin. hydrochloricum im Verhältnis von 1:30 000 in Kaninchenserum das Wachstum von Rotlaufbacillen nicht hemmte.

Baum und Herrenheiser³⁾ beobachteten keine Einwirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen in vivo und in vitro.

Unsere Versuche wurden mit folgender Technik ausgeführt. Es wurden modifizierte Reagenzglasversuche vorgenommen, indem nach einer bestimmten Einwirkung des Aethylhydrocupreins auf Rotlaufbacillen im Reagenzglase die in den Aethylhydrocupreinverdünnungen suspendierten Bacillen intraperitoneal Mäusen injiziert wurden und nun der Verlauf der Rotlaufinfektion resp. deren eventuelles Ausbleiben beobachtet wurde.

Die beiden Kulturen, die zu unseren Versuchen benutzt wurden, waren ein Stamm (Frosch II), der uns von Herrn Geheimrat Frosch zur Verfügung gestellt wurde, und ein Stamm (Stamm Höchst), den uns die Höchster Farbwerke überlassen hatten. Diese Stämme zeigten auf Serumagar und in alkalischer Bouillon reichliches Wachstum. 0,1 ccm der Verdünnung 1:10 000 einer 24-stündigen Bouillonkultur tötete eine Maus von 15–20 g in 3 Tagen. Die Kulturen wurden jeden Tag von Bouillon zu Bouillon übergeimpft. Alle 8–10 Tage wurde eine Mäusepassage eingeschaltet und aus dem Herzblut der an Rotlauf verstorbenen Maus eine neue Bouillonkultur angelegt.

Von 2-proz. Stammlösungen der chemischen Agentien wurden verschiedene Verdünnungen in sterilem destillierten Wasser hergestellt. Je 2 ccm solcher Verdünnungen wurden mit 2 ccm einer Verdünnung 1:10 einer 24-stündigen Kultur in Nährbouillon gemischt. Im Reagenzglase, das im Dunklen

1) Neufeld und Schiemann, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Bd. 57, 1913, Beiheft.

2) Schiemann und Ishiwara, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 77, 1914.

3) Baum und Herrenheiser, Wien. klin. Wochenschr., 1914, No. 24.

bei Zimmertemperatur gehalten wurde, wirkte das chemische Agens eine bestimmte Zeit auf die Rotlaufkultur ein, dann wurden Mäuse peritoneal mit 0,2 ccm dieses Gemisches gespritzt. Das Herzblut der gestorbenen Mäuse wurde stets kulturell und mikroskopisch auf Rotlaufbacillen untersucht; Mäuse, die an interkurrenten Krankheiten — meistens einer Paratyphusform — starben, sind in den Tabellen angegeben, die überlebenden Tiere wurden noch 10—14 Tage beobachtet. Die Versuche wurden mit den salzsauren Salzen von Chinin, Hydrochinin, Aethylhydrocuprein und Isopropylhydrocuprein ausgeführt.

Beim ersten Versuche (Tabelle I) sollte festgestellt werden, ob bei gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von Kultur und Heilmittel eine Heilwirkung eintritt.

Tabelle I.

Versuch vom 24. XI. 1913. Einwirkung von Chinin. hydrochlor., Hydrochinin. hydrochlor. und Aethylhydrocuprein. hydrochlor. auf Rotlaufbacillen (Stamm Frosch II) bei gleichzeitiger Injektion von Heilmittel und Kultur.

	I. Chininum hydrochloricum					II. Hydrochinin. hydrochloricum					III. Aethylhydrocuprein. hydrochl.					IV. Kontrollen
Verdünnung	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	Aqua dest.
No. der Maus	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	kr. ¹⁾	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.
	3	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R

Es zeigt sich bei dieser Simultaninjektion nicht die geringste Einwirkung, da die behandelten Tiere der Infektion in gleicher Weise erliegen wie die Kontrolltiere. Nun wurden die Versuche in der Weise fortgeführt, daß im Reagenzglase dem chemischen Agens Zeit gelassen wurde, auf die Rotlaufbacillen seine Wirkung auszuüben, und dann erst — bei den Versuchen II—V nach 30 Minuten — wurden 0,2 ccm der, wie oben angegeben, hergestellten Gemische von Rotlaufkultur und den chemischen Agentien Mäusen intraperitoneal injiziert.

1) kr. = krank.

Tabelle II.

Versuch vom 22. XI. 1913. Einwirkung von Chinin. hydrochl. und Aethylhydrocuprein. hydrochl. auf Rotlaufbacillen Stamm Frosch II. 2-proz. Lösungen der Heilmittel werden verschieden verdünnt. Je 2 ccm davon mit 2 ccm einer 24-stündigen $\frac{1}{10}$ Rotlaufkultur gemischt und 30 Minuten im Dunkeln stehen gelassen; dann 0,2 ccm der Gemische Mäusen intraperitoneal injiziert.

	I. Chininum hydrochloricum						II. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum						III. Kontrollen
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	Aqua dest.
Einwirkung	30 Minuten												
No. der Maus	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152
Tage nach der Infektion													
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	kr.
3	0	0	0	†R	†R	†R	0	0	0	0	0	†R	†R
4	0	0	kr.				0	0	0	0	0		
5	0	0	†R				0	0	0	0	0		
6	0	†R					0	0	0	0	0		
7	0						0	0	0	0	0		
8	0						0	0	0	0	0		
9	0						0	0	0	0	0		
10	0						0	0	0	0	0		

Tabelle III.

Versuch vom 4. XII. 1913. Einwirkung von Chinin. hydrochlor. und Hydrochin. hydrochlor. auf Rotlaufbacillen Stamm Frosch II.

	I. Chinin. hydrochloricum							II. Hydrochininum hydrochloricum							III. Kontr.
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Aqua dest.
Einwirkung	30 Minuten														
No. der Maus	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201
Tage nach der Infektion															
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	kr.	†R	†R	†R	0	0	0	†R	†R	†R	†R	†R
5	0	0	kr.	†R				0	0	0					
6	0	0	kr.					0	0	0					
7	0	0	†R					0	0	0					
8	0	0						0	0	0					
9	0	0						0	0	0					
10	0	0						0	0	0					

Tabelle IV.

Versuch vom 4. XII. 1913. Einwirkung von Aethylhydrocuprein. hydrochlor. und Isopropylhydrocuprein. hydrochlor. auf Rotlaufbacillen Stamm Frosch II.

	I. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum							II. Isopropylhydrocupreinum hydrochloricum							III. Kontr.
Verdünnung	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Aqua dest.
Einwirkung	30 Minuten														
No. der Maus	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	†R	0	0	0	† ¹⁾	0	†R	†R	†R
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1) Im Herzblut der Maus 212 fanden sich bei der Sektion keine Rotlaufbacillen, nur gramnegative Stäbchen.

Schon hier (Tabelle II—IV) zeigt sich eine deutliche Hemmung bei den mit Chinin behandelten Mäusen. Während die Kontrollmäuse ausnahmslos am 3. oder 4. Tage zugrunde gingen, überstanden die mit Chininverdünnung von 1:100—200 behandelten Mäuse stets die Infektion, während die Chininverdünnung von 1:200 und 1:400 eine Verzögerung der Infektion um 2—3 Tage bewirkte. Die abtötende Wirkung der Chinaalkaloide nimmt, wie ersichtlich, bei Hydrochinin noch zu, zeigt ihre Spitze beim Aethylhydrocuprein, da hier noch eine Verdünnung von 1:3200 genügt, um die Infektion zu verhindern, und fällt dann noch weiter in geringem Maße beim Isopropylhydrocuprein, wo noch eine Verdünnung von 1:1600 den Tod verhindert.

Dieselben Versuche in der gleichen Anordnung wurden mit dem Stamm Höchst wiederholt und ergaben dasselbe Resultat, wobei, wie auch bei den eben geschilderten Versuchen,

kleine Schwankungen innerhalb der Grenzwerte der Verdünnungen nach oben und unten vorkommen.

Tabelle V.

Versuch vom 5. III. 1914. Einwirkung von Chinin. hydrochl. und Aethylhydrocuprein. hydrochl. auf Rotlaufbacillen Stamm Höchst.

Verdünnung	I. Chininum hydrochloricum						II. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum						III. Kontrollen
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	Aqua dest.
Einwirkung	30 Minuten												
No. der Maus	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	†R	†R	†R	0	0	0	0	0	†R	†R
4	0	0	†R				0	0	0	0	0		
5	0	0					0	0	0	0	0		
6	0	†R					0	0	0	0	0		
7	0						0	0	0	0	0		
8	0						0	0	0	0	0		
9	0						0	0	0	0	0		
10	0						0	0	0	0	0		

Tabelle VI.

Versuch vom 5. III. 1914. Einwirkung von Aethylhydrocupreinum hydrochlor. und Isopropylhydrocupreinum hydrochlor. auf Rotlaufbacillen Stamm Höchst.

Verdünnung	I. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum							II. Isopropylhydrocupreinum hydrochloricum							III. Kontr.
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Aqua dest.
Einwirkung	30 Minuten														
No. der Maus	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	†R	†R	0	0	0	0	0	†R	†R	†R
5	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0			
6	0	0	0	0	0			0	0	0	0	†R			
7	0	0	0	0	0			0	0	0	0				
8	0	0	0	0	0			0	0	0	0				
9	0	0	0	0	0			0	0	0	0				
10	0	0	0	0	0			0	0	0	0				

Tabelle VII.
Versuch vom 4. XII. 1913.

	I. Chininum hydrochloricum						II. Hydrochininum hydrochloricum						III. Kontr.		
Verdünnung	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Aqua dest.
Einwirkung	60 Minuten														
No. der Maus	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	kr.	†R	†R	†R	0	0	0	0	0	†R	†R
	5	0	0	0	†R				0	0	0	0	0		
	6	0	0	kr.					0	0	0	0	kr.		
	7	0	0	†R					0	0	0	0	†R		
	8	0	0						0	0	0	0			
	9	0	0						0	0	0	0			
	10	0	0						0	0	0	0			

Tabelle VIII.
Versuch vom 4. XII. 1913.

		I. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum						II. Isopropylhydrocuprein. hydrochloricum						III. Kontr.		
Verdünnung		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Aqua dest.
Einwirkung		60 Minuten														
No. der Maus		232	233	234	235	236	237	238	239	240	250	251	252	253	254	255
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	† ¹⁾	† ¹⁾	0	0	0	0	0	0	0	0	†R	†R
	5	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0	0		
	6	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0	†R		
	7	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0			
	8	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0			
	9	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0			
	10	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0			

1) In dem bei der Sektion von Maus 235 und 236 gewonnenen Herzblut konnte kein Rotlauf, nur gramnegative Stäbchen nachgewiesen werden.

Nur 1mal — Tabelle VIII — gelang es, eine Abtötung des Rotlaufs noch bei einer Verdünnung von Optochin im Verhältnis von 1:6400 zu erlangen. Auch diese drei Ver-

suche wurden wieder mit dem Stamme Höchst wiederholt und gaben dasselbe Resultat (s. Tabelle IX—XI).

Tabelle IX.

Versuch vom 11. III. 1914. Einwirkung von Chininum hydrochlor. und Hydrochin. hydrochlor. auf Rotlaufbacillen. Stamm Höchst.

	I. Chininum hydrochloricum							II. Hydrochininum hydrochloricum							III. Kontr.
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Aqua dest.
Einwirkung	60 Minuten														
No. der Maus	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	†R	†R	†R	0	0	0	0	†R	†R	†R
	5	0	0	0	†R				0	0	0	0			
	6	0	0	†R					0	0	0	†R			
	7	0	0						0	0	0	0			
	8	0	0						0	0	0	0			
	9	0	0						0	0	0	0			
	10	0	0						0	0	0	0			

Tabelle X.

Versuch vom 11. III. 1914. Einwirkung von Aethylhydrocuprein. hydrochlor. und Isopropylhydrocuprein. hydrochlor. auf Rotlaufbacillen. Stamm Höchst.

	I. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum							II. Isopropylhydrocuprein. hydrochloricum							III. Kontr.
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Aqua dest.
Einwirkung	60 Minuten														
No. der Maus	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	†R	†R	†R
	5	0	0	0	0	0	†R	0	0	0	0	0			
	6	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0			
	7	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0			
	8	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0			
	9	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0			
	10	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0			

Tabelle XI.
Versuch vom 22. XI. 1913.

	I. Chininum hydrochloricum						II. Hydrochininum hydrochloricum						III. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum						IV. Kontr.
Verdünnung	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	Aqua dest.
Einwirkung	60 Minuten																		
No. der Maus	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186
Kulturkontrollen auf Serumagar	—	—	—	—	be-wachsen	be-wachsen	—	—	—	—	be-wachsen	be-wachsen	—	—	—	—	—	be-wachsen	be-wachsen
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	†R	†R	0	0	0	0	0	†R	†R	0	0	0	0	0	†R
4	0	0	0	kr.			0	0	0	0	†R		0	0	0	0	0	kr.	
5	0	0	kr.	†R			0	0	0	0			0	0	0	0	0	†R	
6	0	0	†R				0	0	0	0			0	0	0	0	0		
7	0	0					0	0	0	0			0	0	0	0	0		
8	0	0					0	0	0	0			0	0	0	0	0		
9	0	0					0	0	0	0			0	0	0	0	0		
10	0	0					0	0	0	0			0	0	0	0	0		

Versuch XI verdient vor den anderen hervorgehoben zu werden, da hier neben dem Tierversuch noch ein Kulturversuch ausgeführt wurde. Eine Oese von den verschiedenen Gemischen, mit denen auch die Mäuse gespritzt worden waren, wurde auf Serumagar ausgestrichen. Hier sind nun bei den Hydrochinin- und Aethylhydrocupreinversuchen analog der angegangenen Infektion bei den Tieren die betreffenden Serumagarplatten bewachsen, während beim Chininversuch die Platten, die mit der Kulturchininverdünnung von 1:400 und 1:800 beimpft waren, steril blieben. Die mit denselben Verdünnungen geimpften Mäuse gingen aber — wenn auch bei etwas verzögerter Infektion — doch zugrunde. Diese Differenz zwischen dem Versuch in vivo und in vitro läßt sich vielleicht so erklären, daß bei dem Kulturversuch auf den Serumplatten mit der Oese zu wenig infektiöses Material ausgestrichen war, während bei der Injektion der Mäuse eine genügend große Menge von Rotlaufbacillen in den Tierkörper gelangte, um noch eine Infektion angehen zu lassen.

Ließen wir nun die Alkaloide 2 Stunden auf die Rotlaufkulturen im Reagenzglase einwirken — es geschah dies bei

Zimmertemperatur wie im Wasserbade bei 37° — so zeigte sich, daß aus diesem Versuche kein Schluß mehr auf die Wirkung der Alkaloide gezogen werden konnte, da hier auch die Kontrolltiere gesund blieben, weil eine 2-stündige Einwirkung von Aqua dest. auf Rotlaufbacillen diese bereits so weit schädigte, daß die nachträglich vorgenommene Infektion nicht mehr anging.

Wir schlossen nun hieran Versuche, bei denen die Alkaloide in einem eiweißhaltigen Medium, in Ziegenserum, verdünnt wurden. Das Ziegenserum, das höchstens 24 Stunden alt war, wurde stets vor dem Gebrauche inaktiviert. Es zeigte sich in diesem Medium eine völlig andere Wirkung der Alkaloide auf die Rotlaufbacillen.

Von den Mäusen, die mit Chinin behandelt wurden, starben alle, selbst die, welche mit der Chininverdünnung von 1:100 behandelt worden waren, wenn diese auch gegenüber den Mäusen, denen höhere Verdünnungen injiziert worden waren, eine Verlangsamung des Krankheitsverlaufes aufwiesen. Es blieb dabei ganz gleich, ob die Einwirkung der Serum-Chinin-Verdünnungen auf die Rotlaufbacillen im Reagenzglase 60 Minuten oder 24 Stunden gedauert hatte. Hier konnte ein 24-Stunden-Versuch gemacht werden, da die Rotlaufbacillen im Ziegenserum nicht geschädigt oder abgetötet werden (s. Tabelle XII—XIV).

Tabelle XII.

Versuch vom 17. XII. 1913. Einwirkung der Chinaalkaloide auf Rotlaufbacillen in Ziegenserum.

Verdünnung mit Ziegenserum	I. Chininum hydro- chloricum							II. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum							III. Kontr.
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Ziegen- serum
Einwirkung	24 Stunden bei 37°														
No. der Maus	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	†R	†R	†R	†R	†R	0	0	0	0	†R	†R	†R	†R
5	†R	†R						0	0	0	†R				
6								0	†R	†R					
7								†R							

Tabelle XIII.

Versuch vom 4. III. 1914. Einwirkung der Chinaalkaloide auf Rotlauf-
bacillen in Ziegenserum.

	I. Chininum hydrochloricum							II. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum							III. Kon- trollen	
Verdünnung mit Ziegenserum	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Ziegen- serum	Aqua dest.
Einwirkung	60 Minuten bei 37°															
Die Serum- agarplatten sind:	—	++	++	++	++	++	++	—	—	+	++	++	++	++	++	++
No. der Maus	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317
Tage nach d. Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	0	0	0	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.
3	kr.	kr.	†R	†R	†R	†R	†R	0	0	†R	†R	†R	†R	†R	†R	†R
4	†R	†R						kr.	kr.							
5								†R	†R							

Tabelle XIV.

Versuch vom 4. III. 1914. Einwirkung der Chinaalkaloide auf Rotlauf-
bacillen in Ziegenserum.

	I. Chininum hydrochloricum							II. Aethylhydrocupreinum hydrochloricum							III. Kon- trollen	
Verdünnung mit Ziegenserum	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Ziegen- serum	Aqua dest.
Einwirkung	24 Stunden bei 37°															
Kulturkon- trollen	—	—	—	+	++	++	++	—	—	—	—	—	++	++	++	++
No. der Maus	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	0	0	0	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.	kr.
3	0	kr.	kr.	†R	†R	†R	†R	0	0	0	†R	†R	†R	†R	†R	†R
4	kr.	†R	†R					0	kr.	kr.						
5	†R							kr.	†R	†R						
6								†R								

Auch beim Isopropylhydrocuprein und Aethylhydrocuprein
verschwand die bei den früheren Versuchen mit Wasser-
verdünnungen beobachtete Wirkung. Die Kulturversuche,
die bei Versuch X und XI parallel mit den Tierversuchen
ausgeführt wurden, zeigen zwar in der Tabelle beim Chinin
eine Abtötung bis 1:400, beim Aethylhydrocuprein bis 1:1600

im 24-stündigen Versuche, doch die Infektion ging im Tierkörper — wenn auch meist etwas verzögert — trotzdem an.

Es zeigt sich so eine ausgesprochene Hemmung sämtlicher untersuchten Alkaloide in ihrer Wirkung auf den Rotlaufbacillus durch die Anwesenheit von Ziegenserum. Das Aethylhydrocuprein allein zeigt nur noch durch den verzögerten Tod der Versuchstiere eine ganz geringe Wirkung auf die Rotlaufbacillen. Es scheint sich hier so zu bestätigen, was Schiemann und Ishiwaras schon bei anderen chemotherapeutischen Agentien beschrieben haben, daß solche Agentien, die unspezifisch auf Bakteriengruppen wirken, durch eiweißhaltige Medien in ihrer Wirkung noch mehr abgeschwächt werden, während chemische Agentien von spezifischer Wirkung, wie z. B. das Salvarsan, bei Schweinerotlauf und Milzbrandbacillen in eiweißhaltigen Medien ebenso gut oder noch besser wirken als in eiweißfreien Medien.

In einer letzten Versuchsreihe, die in den Tabellen XV bis XVII niedergelegt ist, wurde noch die Wirkung zweier Rotlaufimmunsera auf zwei Rotlaufkulturen und die kombinierte Wirkung von Immunserum und Aethylhydrocuprein erprobt. Diesen Kombinationsversuch verglichen wir mit der Einwirkung des Immunserums allein auf die Rotlaufbacillen (s. Tabellen XV—XVII).

Folgende Technik wurde dabei angewandt: Die Mäuse der Reihe A und B wurden am 1. Versuchstage mit 0,3 ccm der Serumverdünnung subkutan geimpft. Am 2. Tage wurden ihnen intraperitoneal 0,2 ccm einer 24-stündigen Rotlaufkultur in der Verdünnung 1:10 injiziert. Bei der Versuchsreihe B wird gleichzeitig mit der Kultur subkutan eine 2-proz. ölige Lösung der Aethylhydrocupreinbase injiziert, in einer Menge, daß 0,5 ccm derselben auf 20 g Maus kommen. Diese subkutane Injektion des Heilmittels wird bei der Versuchsreihe B 24 Stunden später noch einmal wiederholt in einer Menge, daß jetzt 0,4 ccm des Heilmittels auf 20 g Maus kommen. Versuch XII und XIII wurden mit dem Stamm Frosch II ausgeführt und das Immunserum Ruete-Enoch verwandt; Versuch XIV mit dem Immunserum Susserin und dem Höchster Stamm.

Bei allen Versuchen zeigte es sich, daß das Immunserum, allein injiziert, und auch noch in einer Verdünnung bis 1:10 die Rotlaufinfektion verhindert, daß aber dessen Kombination mit dem Aethylhydrocuprein bei gleicher Verdünnung schlechter wirkt und den tödlichen Verlauf nur verzögert, nicht aber verhindert.

Tabelle X V.
Versuch vom 6. XI. 1913.

	A. Rotlaufimmunserum Ruete-Enoch						B. Rotlaufimmunserum + Aethylhydrocuprein- base						C. Kon- trollen
	reines Serum	1:10	1:50	1:100	1:200	1:400	reines Serum	1:10	1:50	1:100	1:200	1:400	Aqua dest.
No. der Maus	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
Tage nach der Infektion													
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	kr.	0	0	0	0	kr.	kr.	†R
4	0	0	0	0	†R	†R	0	0	0	†R	†R	†R	
5	0	0	0	kr.			0	0	†R				
6	0	0	0	†R			kr.	kr.					
7	0	0	0				† ¹⁾	† ¹⁾					
8	0	0	kr.										
9	0	0	†R										
10	0	0											
11	0	0											
12	0	0											

1) In dem Herzblut der Mäuse 109 und 110 wurden bei der Sektion keine Rotlaufbacillen, nur gramnegative Stäbchen gefunden.

Tabelle X VI.
Versuch vom 10. XI. 1913.

	A. Rotlaufimmunserum Ruete-Enoch						B. Rotlaufimmunserum + Aethylhydrocuprein- base						C. Kon- trollen
	reines Serum	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	reines Serum	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	Aqua dest.
No. der Maus	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128
Tage nach der Infektion													
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	kr.	kr.	0	0	0	0	kr.	kr.	kr.
3	0	0	0	0	kr.	†R	0	0	0	0	kr.	†R	†R
4	0	0	0	0	†R		0	0	kr.	kr.	†R		
5	0	0	0	0			0	0	kr.	†R			
6	0	0	0	kr.			0	0	†R				
7	0	0	0	kr.			0	0					
8	0	0	kr.	kr.			0	0					
9	0	0	kr.	†R			0	0					
10	0	† ¹⁾	†R				0	0					
11	0						0	kr.					
12	0						0	kr.					
13	0						0	†R					
14	0						0						
15	0						0						

1) Im Herzblut der Maus 117 keine Rotlaufbacillen, nur gramnegative Stäbchen. Die am 15. Tage noch lebenden Mäuse wurden noch bis zum 30. Tage nach der Infektion beobachtet und blieben gesund.

Tabelle XVII.
Versuch vom 11. XII. 1913.

Verdünnung	A. Rotlaufserum Susserin								B. Rotlaufserum Susserin + Aethylhydrocupreinbase								C. Kontrollen
	reines Serum	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	reines Serum	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	Aqua dest.
No. der Maus	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301
Tage nach der Infektion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	kr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	kr.	kr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	kr.	†R	0	0	0	0	kr.	†R	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	†R	0	0	0	0	†R	†R	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	kr.	0	0	0	0	†R	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	†R	0	0	0	kr.	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	kr.	0	0	0	0	0	kr.	0	0	0	0	0	0	0
13	0 ¹⁾	0	0	†R	0	0	0	0	0	†R	0	0	0	0	0	0	0

1) Die am 13. Tage nach der Infektion noch lebenden Mäuse werden noch bis zum 40. Tage beobachtet. Maus 293 stirbt noch am 32. Tage nach der Infektion. Im Herzblut nur Rotlaufbacillen. Die drei anderen Mäuse bleiben gesund.

Zusammenfassung.

I. Schweinerotlaufbacillen werden im Reagenzglas (Prüfung durch Tierversuch) von verschiedenen Chininderivaten abgetötet.

Von den untersuchten Verbindungen wirkt am stärksten Optochin (Aethylhydrocuprein), weniger stark Isopropylhydrocuprein, Hydrochinin und endlich Chinin.

II. Wird als Medium an Stelle von Wasser, das an und für sich nach einiger Zeit stark schädigend wirkt, Ziegen-serum angewendet, so findet eine ungemein starke Hemmung der Alkaloidwirkung statt.

III. Bei gleichzeitiger Behandlung von Mäusen, die mit Schweinerotlaufbacillen infiziert sind, mit spezifischem Serum und Optochin findet keine Steigerung der Serumwirkung statt, diese wird im Gegenteil vermindert.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienisch-parasitologischen Institut der Universität
Lausanne.]

Hämagglutinine und Hämolysine in getrockneten Pilzen.

Von **B. Galli-Valerio** und **M. Bornand**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Dezember 1915.)

Hämagglutinine und in einigen Fällen Hämolysine wurden hauptsächlich in Phanerogamen beschrieben. Aber selbst in Phanerogamen sind sie nicht sehr verbreitet. So konnten v. Eisler und v. Porthheim, die 99 Species und Varietäten von 56 verschiedenen Gattungen untersucht haben, den Nachweis nur bei 6 Arten einer Gattung erbringen¹⁾. Die Hämagglutinine und Hämolysine der Phanerogamen wurden im allgemeinen nur in den Samen nachgewiesen, und nach v. Eisler und v. Porthheim²⁾ hauptsächlich in den Teilen des Samens, in denen eine Anhäufung von Reservestoffen stattfindet. Nur Lau³⁾ hat in der Rinde von *Robinia pseud-acacia* und v. Eisler und v. Porthheim⁴⁾ im Milchsaft von Euphorbien Hämagglutinine entdeckt.

Bis jetzt wurden Hämagglutinine und in einigen Fällen Hämolysine bei folgenden Phanerogamen beschrieben:

Euphorbiaceae:

Ricinus communis [Dixson⁵⁾, Stillmark⁶⁾].

Croton tiglium [Elfstrand⁷⁾].

26 Arten der Gattung *Euphorbia* [v. Eisler und v. Porthheim⁸⁾].

Solaneae:

7 Arten der Gattung *Datura* [v. Eisler und v. Porthheim⁹⁾].

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 1, 1909, p. 151.

2) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 66, 1912, p. 309.

3) Inaug.-Dissert. Rostock, 1901.

4) Zit. Arbeit Anm. 2.

5) Australian med. Gaz., 1887. (Nach Friedberger und Brossa, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 15, 1912, p. 506.)

6) Arb. aus dem Pharm. Institut Dorpat, 1888—1889. (Idem.)

7) Görbersdorfer Veröffentl., 1898. (Idem.)

8) Zit. Arbeit Anm. 1.

9) Zit. Arbeit Anm. 2.

Papilionaceae:

Abrus precatorius [Kobert¹⁾].

Robinia pseudacacia [Lau²⁾].

Phaseolus vulgaris, *Lens esculenta*, *Pisum sativum*, *Vicia sativa* [Landsteiner und Raubitschek³⁾].

Vicia faba, *Lupinus luteus*, *Medicago sativa* [Lenze⁴⁾].

Phaseolus multiflorus [Schneider⁵⁾].

Phaseolus mungo, *Dolichos soja* [Wakulenko⁶⁾].

Wenig bekannt sind die Hämagglutinine und Hämolysine von Pilzen.

Nach Boström⁷⁾, Ponfick⁷⁾, Boehm und Külz⁷⁾ können *Morchella esculenta* und *Helvella esculenta* im Organismus starke Hämoglobinurie erzeugen.

Kobert⁸⁾ und Rabe⁹⁾ haben das hämolytische Vermögen von *Amanita phalloides*, Friedberger und Brossa¹⁰⁾, Ford¹¹⁾, Radais und Sartory¹²⁾, Parisot und Vernier¹³⁾ das hämolytische und agglutinierende Vermögen von verschiedenen Pilzen beschrieben.

Nach Friedberger und Brossa könnte die verschiedene Wirkung von Extrakten der frischen Pilze auf verschiedene Blutarten es ermöglichen, die Pilze voneinander zu differenzieren.

Im Jahre 1913 haben wir gezeigt, daß es möglich ist, mit spezifischen präzipitierenden Sera getrocknete Pilze zu differenzieren¹⁴⁾, und wir wollten jetzt sehen, ob man mit der Methode von Friedberger und Brossa zu ähnlichen Resultaten kommen kann.

Für unsere Untersuchungen haben wir die folgenden Pilze angewandt:

1) Naturf. Ges. Rostock, Bd. 25, 1900. (Nach Friedberger und Brossa.)

2) Zit. Arbeit.

3) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 45, 1908, p. 660.

4) Inaug.-Dissert. Gießen, 1909.

5) Journ. of biol. Chem., Vol. 11, p. 47. (Nach Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 56, 1913, p. 16.)

6) Landw. Versuchsstat. Bd. 82, p. 313. (Idem, Bd. 63, 1915, p. 289.)

7) Nach Friedberger und Brossa.

8) Lehrbuch der Intoxikationen, 2. Aufl., Stuttgart 1906. (Nach Friedberger und Brossa.)

9) Zeitschr. f. exp. Pathol., Bd. 9, 1911, p. 352. (Idem.)

10) Zit. Arbeit.

11) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 58, 1913, p. 129 u. 193.

12) Bull. de l'Inst. Pasteur, 1913, p. 264.

13) Ebenda p. 265.

14) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 17, 1913, p. 180.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XXV.

11

Fungi¹⁾.

Hymenomycetes

Basidiomycetes

Ord. Agaricini

Trib. Amanita

- Amanita muscaria* Linn. (giftig)
- „ *phalloides* Fr. (giftig)
- „ *citrina* Schaeff. (giftig)
- „ *pantherina* D. C. (giftig)
- „ *vaginata* Bull. (eßbar)

Trib. Lepiota

- Armillaria mellea* Vahl. (eßbar)

Trib. Gymnopus

- Tricholoma nudum* Bull. (eßbar)
- „ *columbetta* Fr. (eßbar)
- „ *album* Sch. (verdächtig)
- „ *vaccinum* (eßbar)

Trib. Pratella

- Pratella campestris* Linn. (eßbar)

Trib. Cortinarius

- Cortinarius violaceus* Linn. (eßbar)

Trib. Lactarius

- Lactarius deliciosus* Linn. (eßbar)

Trib. Russula

- Russula cyanoxantha* Schaeff. (eßbar)

Trib. Cantharellus

- Cantharellus tubaeformis* Fr. (verdächtig)

Ord. Polyporus

Trib. Boletus

- Boletus edulis* Bull. (eßbar)

• Ord. Hydnei

- Hydnum repandum* Linn. (eßbar)

Ord. Clavariacei

- Clavaria cinerea* Bull. (eßbar).

Die Extrakte dieser getrockneten Pilze wurden in der folgenden Weise hergestellt:

Die Pilze wurden sehr fein zermahlen; 4 g dieses Pulvers wurden mit 40 ccm 0,90-proz. Kochsalzwasser gemischt, 3 Stunden im Schüttelapparat bei Zimmertemperatur geschüttelt und durch Papier filtriert. Die gelbbraune, ziemlich klare Säureflüssigkeit wurde mit einer 1-proz. Lösung von Natr. carb. neutralisiert. Diese Extrakte haben wir auf 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung von gut gewaschenen roten Blutkörperchen von Pferd, Rind, Hammel und Schwein in fallenden Mengen bei 37° 2 Stunden

1) Nach Leuba, Les champignons comestibles et les espèces vénéneuses, Neuchâtel 1890.

wirken lassen. Das Resultat ergibt sich aus den nachstehenden Tabellen, in denen die Zeichen + starke, × mittlere, — schwache, 0 keine Agglutination (A) oder Hämolys (H) bedeuten.

Extrakt	5-proz. Blutk.	Pferd		Rind		Hammel		Schwein	
		A	H	A	H	A	H	A	H
Amanita muscaria									
0,8	1 ccm	0	+	0	+	0	+	0	+
0,6	1 "	0	+	0	+	0	+	0	+
0,4	1 "	0	+	0	+	0	+	0	+
0,2	1 "	0	+	0	—	0	+	0	+
0,1	1 "	0	+	0	0	0	0	0	×
0,05	1 "	0	×	0	0	0	0	0	×
Amanita phalloides									
0,8	1 ccm	0	+	0	+	0	+	0	+
0,6	1 "	0	+	0	+	0	+	0	+
0,4	1 "	0	+	0	+	0	+	0	+
0,2	1 "	0	+	0	+	0	×	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Amanita citrina									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Amanita pantherina									
0,8	1 ccm	Nicht ex- perimentiert	Nicht ex- perimentiert	0	+	—	+	0	+
0,6	1 "			0	+	—	+	0	+
0,4	1 "			0	+	—	+	0	+
0,2	1 "			0	+	—	+	0	+
0,1	1 "			0	+	—	+	0	×
0,05	1 "			0	+	0	+	0	×
Amanita vaginata									
0,8	1 ccm	0	—	0	×	0	0	0	—
0,6	1 "	0	—	0	×	0	0	0	0
0,4	1 "	0	0	0	—	0	0	0	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Armillaria mellea									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	0	—
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	0	—
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	0	—
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	—
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	—
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	—

Extrakt	5-proz. Blutk.	Pferd		Rind		Hammel		Schwein	
		A	H	A	H	A	H	A	H
Tricholoma nudum									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	—	0	+	0
0,6	1 "	0	0	0	0	—	0	+	0
0,4	1 "	0	0	0	0	—	0	+	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	×	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	—	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Tricholoma columbetta									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Tricholoma album									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Tricholoma vaccinum									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Pratella campestris									
0,8	1 ccm	0	0	0	+	×	0	+	0
0,6	1 "	0	0	0	+	×	0	+	0
0,4	1 "	0	0	0	+	—	0	+	0
0,2	1 "	0	0	0	+	—	0	×	0
0,1	1 "	0	0	0	+	—	0	—	0
0,05	1 "	0	0	0	0	—	0	—	0
Cortinarius violaceus									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	+	×
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	+	×
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	+	×
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	+	×
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	+	×
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	+	×
Lactarius deliciosus									
0,8	1 ccm	0	×	0	0	—	—	+	×
0,6	1 "	0	×	0	0	—	—	+	×
0,4	1 "	0	×	0	0	0	0	+	×
0,2	1 "	0	—	0	0	0	0	0	×
0,1	1 "	0	—	0	0	0	0	0	×
0,05	1 "	0	—	0	0	0	0	0	×

Extrakt	5-proz. Blutk.	Pferd		Rind		Hammel		Schwein	
		A	H	A	H	A	H	A	H
Russula cyanoxantha									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	0	×
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	0	×
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	0	×
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	×
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	×
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	×
Cantharellus tubaeformis									
0,8	1 ccm	0	×	0	+	0	+	0	+
0,6	1 "	0	×	0	+	0	+	0	+
0,4	1 "	0	×	0	+	0	×	0	+
0,2	1 "	0	×	0	+	0	0	0	×
0,1	1 "	0	×	0	×	0	0	0	×
0,05	1 "	0	×	0	×	0	0	0	×
Boletus edulis									
0,8	1 ccm	+	0	×	0	+	0	+	0
0,6	1 "	+	0	×	0	+	0	+	0
0,4	1 "	+	0	0	0	+	0	+	0
0,2	1 "	×	0	0	0	×	0	×	0
0,1	1 "	0	0	0	0	—	0	×	0
0,05	1 "	0	0	0	0	—	0	×	0
Hydnum repandum									
0,8	1 ccm	0	0	0	×	0	0	0	0
0,6	1 "	0	0	0	×	0	0	0	0
0,4	1 "	0	0	0	×	0	0	0	0
0,2	1 "	0	0	0	×	0	0	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
Clavaria cinerea									
0,8	1 ccm	0	—	0	—	0	0	×	—
0,6	1 "	0	0	0	—	0	0	×	—
0,4	1 "	0	0	0	—	0	0	×	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	×	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0

Nach diesen Tabellen wirken die Extrakte von verschiedenen getrockneten Pilzen sehr verschieden auf verschiedene Blutarten, so daß eine annähernde Differenzierung von einigen Arten möglich wäre. Aber wenn wir unsere Resultate mit denjenigen von Friedberger und Brossa vergleichen, so sehen wir, daß nicht immer dieselbe Art auf dasselbe Blut eine entsprechende Wirkung hat. So haben Friedberger und Brossa z. B. mit *B. edulis* auf Pferde-, Rinder- und Schweineblut Agglutination und Hämolyse und

wir nur Agglutination, auf Hammelblut sie nur Hämolyse und wir nur Agglutination bemerkt. Mit *P. campestris* haben Friedberger und Brossa auf Pferde-, Hammel- und Schweineblut Agglutination, wir nur auf Hammel- und Schweineblut, auf Rinderblut sie nur Agglutination, und wir nur Hämolyse bemerkt. Aber man muß sagen, daß Friedberger und Brossa nur mit frischen und wir nur mit getrockneten Pilzen experimentiert haben. Es ist auch möglich, daß jede Art von Pilzen aus verschiedenen Varietäten gebildet wird, die nicht ganz gleich auf das Blut wirken. Schon für Phanerogamen hat Wakulenko bemerkt, daß die Phasine aus weißen, schwarzen und grünen Sojabohnen nicht gleichmäßig agglutinierend wirken, und Ricinuslipase agglutiniert nach Salander Blut von Pferd, Hammel, Huhn nicht, Rinderblut nicht immer, dagegen agglutinierte eine nach Falk und Nelson dargestellte Ricinuslipase fast alle untersuchten Blutarten¹⁾.

Nachdem wir die Wirkung der Pilzextrakte auf verschiedene Blutarten untersucht hatten, haben wir untersucht, ob es möglich wäre, mit dieser Methode Pilzpulver des Handels und Gemische von zwei Pilzen zu differenzieren. Zu unserer Verfügung standen: ein sehr zweifelhaftes und ein sehr wahrscheinliches Pulver von *B. edulis* und zwei Gemische 1:3 und 1:1 von Extrakten 4:40 von *B. edulis* und *A. muscaria*. Das Resultat ergibt sich aus den nachstehenden Tabellen.

Extrakt	5-proz. Blutk.	Pferd		Rind		Hammel		Schwein	
		A	H	A	H	A	H	A	H
1. Zweifelhaftes Pulver von <i>B. edulis</i>									
0,8	1 ccm	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Wahrscheinliches Pulver von <i>B. edulis</i>									
0,8	1 ccm	×	0	×	0	+	0	+	0
0,6	1 "	×	0	—	0	+	0	+	0
0,4	1 "	×	0	—	0	×	0	+	0
0,2	1 "	×	0	0	0	0	0	+	0
0,1	1 "	×	0	0	0	0	0	+	0
0,05	1 "	0	0	0	0	0	0	×	0

1) Wakulenko, zit. Arbeit.

Extrakt	5-proz. Blutk.	Rind		Hammel		Schwein		Bemerkungen
		A	H	A	H	A	H	
B. edulis und A. muscaria 1 : 3								
0,8	1 ccm	+	0	—	0	×	0	Hämolyse ist nur nach etwa 24 Std. bei 0° eingetreten.
0,6	1 "	+	0	—	0	×	0	
0,4	1 "	+	0	—	0	×	0	
0,2	1 "	+	0	0	0	×	0	
0,1	1 "	+	0	0	0	×	0	
0,05	1 "	—	0	0	0	×	0	
B. edulis und A. muscaria 1 : 1								
0,8	1 ccm	×	0	—	0	—	0	Hämolyse ist nur nach etwa 24 Std. bei 0° eingetreten.
0,6	1 "	×	0	—	0	—	0	
0,4	1 "	×	0	—	0	—	0	
0,2	1 "	×	0	—	0	—	0	
0,1	1 "	×	0	—	0	—	0	
0,05	1 "	×	0	0	0	—	0	

Nach diesen Untersuchungen ist es wahrscheinlich, daß Pulver 1 nicht mit *B. edulis* und Pulver 2 mit *B. edulis* präpariert war. Für die zwei Gemische sind die Resultate nicht genügend klar, um eine Entscheidung zu treffen.

Wenn wir unsere Untersuchungen zusammenfassen, so können wir sagen, daß man mit Hämagglutininen und Hämolysinen von Pilzen nur approximativ die verschiedenen Pilze differenzieren kann, und daß die Methode der Präzipitation, die wir empfohlen haben, die beste Methode für die Differenzierung von Pilzen bleibt. Kann man nach der agglutinierenden und hämolysierenden Wirkung der Pilze die giftigen und eßbaren Arten differenzieren? Auch von diesem Standpunkt aus ist die Methode unbrauchbar. So sehen wir z. B., daß *A. citrina*, die sehr giftig ist, keine agglutinierende und keine hämolysierende Wirkung besitzt und *P. campestris*, die eßbar ist, agglutinierend und hämolysierend wirkt. Man mußte das erwarten; denn Hämolysine und Agglutinine scheinen nicht die giftigeren Stoffe in den Pilzen zu sein. So hatte schon Seibert¹⁾ keine Hämolysine in *A. citrina* gefunden, Kunkel¹⁾ sagte, daß die Hämolysine von *A. phalloides* nicht das toxische Agens dieses Pilzes wären, weil sie in einigen Exemplaren fehlen und bei einer Temperatur unter derjenigen des gewöhnlichen Kochens zerstört werden. Kober¹⁾

1) Zitiert nach Ford (zit. Arbeit p. 199).

hat Exemplare von *A. phalloides* gefunden, die sehr toxisch wirkten und kein Hämolysin enthalten. Nach den Arbeiten von Kobert und Ford wissen wir jetzt, daß in *A. phalloides* ein Hämolysin (Phallin), das bei 65° C zerstört wird, und ein Toxin, das thermofest ist, sich finden. Es ist also wahrscheinlich, daß in anderen toxischen Pilzen nur das Toxin enthalten ist.

Zusammenfassung.

- 1) Mit Extrakten von 18 getrockneten Pilzen experimentierend, haben wir beobachtet, daß sie auf 4 verschiedene Blutarten agglutinierend und hämolysierend verschieden wirken.
- 2) Diese verschiedene Wirkung erlaubt nur eine approximative Differenzierung einiger Arten, aber keine Differenzierung von giftigen und eßbaren Arten.
- 3) Die Methode der Präzipitation bleibt die beste für die Differenzierung von Pilzen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienisch-parasitologischen Institut der Universität Lausanne.]

Komplementbindungsversuche mit Kropfwasser.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **B. Galli-Valerio** und **F. Messerli**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Dezember 1915.)

Unsere Gedanken und Experimente verfolgend, daß in der Mehrheit der Fälle der Kropf von sehr leicht infizierbaren Trinkwässern erzeugt wird¹⁾, haben wir untersucht, ob im Kropfwasser komplementbindende Stoffe für Sera von kräftigen Menschen zu finden wären.

In einer vorläufigen Mitteilung schreibt Kolle²⁾, daß Ueberempfindlichkeitsreaktionen und die Komplementbindung

1) F. Messerli, Contribution à l'étude de l'étiologie du goitre endémique. Thèse de Lausanne, 1913.

2) Korrespondenzbl. f. Schweiz. Aerzte, 1909, No. 17.

bisher in der Erforschung des endemischen Kropfes zu keinem Resultate führten. Schittenhelm und Weichardt¹⁾ haben durch monatelang fortgeführte intravenöse Injektionen mit stets steigenden Dosen von Kropfwasser spezifische Kaninchenserum hergestellt und mit Kropfwasser Komplementbindungsversuche gemacht. Die Kropfwasser wurden nach Versetzung mit 0,9-proz. Kochsalzlösung als Antigene verwendet. Mit solchen Experimenten haben sie Hemmungen der Hämolyse, die nur auf eine spezifische Bindung von Antigen und Antikörper zurückgeführt werden konnten, konstatiert. Dieses Phänomen war am deutlichsten ausgebildet, wenn sie dasselbe Wasser, das für die Immunisierung des Kaninchens verwendet worden war, als Antigen verwandten. Diese Versuche sagen natürlich nur, daß man in dem Serum der mit dem Kropfwasser behandelten Kaninchen Antikörper gegen die Mikroorganismen dieses Wassers herstellen kann.

Für unsere Versuche brachten wir ein ganz anderes Verfahren in Anwendung. Das Kropfwasser, das wir angewandt haben, stammte aus dem von Kropf stark befallenen Orte Payerne (Kanton Waadt) und hatte im Hygienischen Institut der Universität Lausanne Kröpfe bei Ratten erzeugt²⁾. Um das Antigen zu gewinnen, haben wir nach zwei Verfahren gearbeitet.

1) 16 l dieses Wassers wurden in zwei breite Schalen gegossen und dann bei einer Temperatur von 35—40° C verdampfen gelassen. Nach 11 Tagen konnten wir 5,200 g von Rückstand einsammeln. Diesem Rückstand haben wir 20 ccm 96-proz. Alkohol hinzugefügt und 2 Stunden im Wasserbad bei 55° geschüttelt und erwärmt. Für die Komplementbindungsversuche haben wir dieses Antigen 1:5, 1:10, 1:25, 1:45, 1:50, 1:100 mit 0,9-proz. Kochsalzlösung verdünnt.

2) 49 l von demselben Wasser wurden durch eine Chamberlandkerze B unter einem Druck von $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}$ Atmosphären filtriert, die Kerze mit etwas Kochsalzlösung gewaschen und das so erhaltene Antigen 3 Stunden im Wasserbad bei 55° erwärmt und geschüttelt, 24 Stunden bei 30° geschüttelt und dann zentrifugiert. Für die Komplementbindungsversuche haben wir diese Flüssigkeit ohne Verdünnung und 1:10, 1:50, 1:100 mit 0,9-proz. Kochsalzlösung verdünnt angewandt.

Wir wissen sehr wohl, daß mit durch Berkefeldkerze filtriertem Kropfwasser Bircher noch bei Ratten Kröpfe erzeugen konnte, aber er konnte

1) Der endemische Kropf, Berlin 1912, p. 102.

2) F. Messerli, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 75, 1914, p. 211.

das auch mit dem Rückstand bewirken, und McCarrison¹⁾ hat mit Rückstand bei 50 Proz., mit filtriertem Wasser nur bei einigen Menschen Kröpfe erzeugt.

Mit den so präparierten Antigenen, die keine hämolytische Wirkung hatten, und Sera von 4 kröpfigen und 3 normalen Menschen haben wir Komplementbindungsversuche nach der Methode von Sabrazès und Eckenstein²⁾ angestellt. Alle unsere Untersuchungen fielen absolut negativ aus.

Diese Untersuchungen beweisen nicht, daß im Kropfwasser kein Antigen für die Antikörper von kröpfigen Menschen vorhanden ist, weil:

1) die Methoden, die wir für die Gewinnung des Kropfwasserantigens verwendet haben, vielleicht nicht geeignet sind;

2) die Wassermenge, die wir verwendet haben, vielleicht zu klein war, und man das Wasser besser an der Quelle und nicht nach Sedimentierung im Reservoir einsammeln müßte.

3) Wir haben in den Monaten November und Dezember das Wasser eingesammelt, und es wäre besser, in verschiedenen Jahreszeiten die Untersuchungen zu wiederholen.

4) Wir haben mit kröpfigen Menschen, die nicht aus Payerne stammten, experimentiert, und es wäre viel besser, an kröpfigen Menschen, die von derselben Ortschaft wie das Wasser stammen, die Untersuchungen anzustellen.

5) Es ist auch möglich, daß bei kröpfigen Menschen nicht immer Antikörper im Blute zu finden sind. Daher beabsichtigen wir, diese Untersuchungen zu wiederholen, und wir hoffen, daß andere Forscher, die mit besseren Mitteln als wir arbeiten können, sie auch wiederholen werden.

Zusammenfassung.

Komplementbindungsversuche mit Kropfwasser und Sera von kröpfigen Menschen haben negative Resultate gegeben, aber es ist sehr zu empfehlen, solche Untersuchungen zu wiederholen.

1) The etiology of endemic goitre, London 1913, p. 97.

2) Galli-Valerio und Bornand, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 10, 1911, p. 440.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über kutane Reaktionserscheinungen bei Schutzgeimpften.

Von Dr. **Max Bürger**,

Assistent an der Med. Klinik Königsberg, z. Zt. Oberarzt bei einer Sanitätskompagnie.

Mit 2 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Januar 1916.)

Das Studium der kutanen Reaktion nach der Vaccination und Revaccination, die Beobachtungen der lokalen Erscheinungen bei der Infektion und der Reinfektion mit Tuberkulose lassen weitgehende Unterschiede bezüglich des Entzündungsablaufs an der Haut erkennen.

Im Falle der Erstvaccination am gesunden Kinde bemerkt man am 3.—4. Tage eine rote Erhebung. Am 4.—6. Tage erscheint eine Papille mit einem roten Entzündungssaum, am 8.—11. Tage wird die Area ausgebildet. Das Maximum der Entzündungserscheinungen ist etwa am 11. Tage erreicht. Das Entzündungsfeld hat einen Durchmesser von etwa 50 mm. Bei der Revaccination dagegen beobachtet man eine frühere Reaktion, bei der das Entzündungsmaximum nach 24 Stunden erreicht ist und die Differenzierung zur Papille und Area ausbleibt. Das Entzündungsfeld erreicht einen Durchmesser von etwa 10 mm.

Impft man ein Meerschweinchen mit Tuberkulose, so bildet sich nach 10—14 Tagen ein hartes Knötchen, das aufbricht und bis zum Tode des Tieres ulzeriert. Im Falle der Reinfektion bildet sich das Knötchen schon am nächsten oder 2. Tage, es kommt rasch zur Nekrose der Impfstelle und ihrer Umgebung, die nekrotisierten Teile werden abgestoßen, eine zurückbleibende flache Ulzeration heilt schnell und dauernd ab.

Diese Erscheinungen werden ganz allgemein als der Ausdruck immunisatorischer Vorgänge aufgefaßt. Ihr Studium hat zur Aufstellung von Theorien über das Wesen der Immunität geführt (v. Pirquet, Allergie).

Wenn generell mit dem Eintritt der Immunität eine Modifikation des durch die Reinjektion des Antigens ausge-

lösten Entzündungsvorganges gegenüber dem nach der ersten Injektion beobachteten verbunden ist, müssen solche Unterschiede sich gelegentlich jeder wiederholten Schutzimpfung nachweisen lassen.

Die im deutschen Heere in großem Umfang durchgeführten Schutzimpfungen gegen Typhus und Cholera bieten Gelegenheit, die durch Bakterien und Bakterienextraktivstoffe am gesunden Menschen ausgelösten Entzündungserscheinungen in der angegebenen Richtung zu untersuchen.

Vorbemerkungen.

Die Impfungen wurden an 300 gesunden Mannschaften einer Sanitätskompagnie durchgeführt. Die Impfstellen wurden mit Alkohol abgerieben, die Injektion mit stets frisch ausgekochten Nadeln gemacht. Die entzündlichen Erscheinungen wurden in einigen Gruppen von Leuten nach 4, 28 und 52 Stunden, in anderen Gruppen nur nach 28 Stunden abgelesen und protokolliert. Es wurden 4 Grade von Reaktionsintensität unterschieden:

- a) Ausbleiben einer sichtbaren entzündlichen Reaktion.
- b) Es erscheint eine eben erkennbare Rötung in der Umgebung des Stichkanals.
- c) Neben einer deutlich erkennbaren Rötung ist die Haut und das Unterhautzellgewebe im Vergleich mit anderen Hautstellen leicht geschwollen, als Zeichen einer mehr oder weniger ausgebildeten Infiltration.
- d) Neben einer starken Rötung ist eine deutliche Infiltration des Entzündungsfeldes zustande gekommen, gelegentlich erhebt sich die infiltrierte Partie quaddelförmig über ihre Umgebung.

Es zeigte sich bald, daß die Reaktionsintensitäten in gleichem Maße abhängig sind von der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des Antigens. Antigene, die laut Aufschrift die gleiche Keimzahl im Kubikzentimeter enthalten sollen, lassen schon durch ihr makroskopisches Aussehen eine verschiedene Emulsionsdichte erkennen. Dichtere Emulsionen

aber machen intensivere und rascher einsetzende Reaktionen und umgekehrt. Um überhaupt zu vergleichbaren Beobachtungen zu kommen, muß man daher unbedingt das gleiche Antigen verwenden. Als mittlerer Verlauftstypus einer lokalen Reaktion nach 0,3 ccm Typhusantigen mag folgender angeführt sein:

4 Stunden nach der Impfung ist in der Ausdehnung von einem Pfennigstück die Umgebung des Stichkanals eben erkennbar gerötet. Eine Infiltration ist durch Betasten der Haut nicht festzustellen; gelegentlich wird dabei eine geringe Schmerzhaftigkeit abgegeben. Nach 28 Stunden ist das Entzündungsfeld bis zum Umfang von Taler- bzw. Fünfmärkstückgröße gewachsen. Erhebt man eine Hautfalte über den Bereich der Entzündung und vergleicht sie mit einer solchen der nicht entzündeten Umgebung, so läßt sich eine Verdickung der Haut des Entzündungsfeldes als Zeichen einer Infiltration unschwer feststellen. Nach 52 Stunden sind in den meisten Fällen die Erscheinungen im Rückgang, bei den späteren Nachimpfungen war um diese Zeit besonders nach vorausgegangenen starken Reaktionen eine blaugrüne Verfärbung in der Stichkanalumgebung festzustellen, ähnlich wie nach einem Bluterguß. Diese Verfärbung beginnt im Zentrum und ist manchmal schon voll entwickelt zu einer Zeit, in der eine gerötete Randzone noch deutlich zu erkennen ist.

Als weitere Fehlerquelle kamen durch langes Lagern des Impfstoffes im Kontakt mit dem Karbol bedingte Veränderungen bezüglich seiner entzündungserregenden Eigenschaften in Betracht; die gleichzeitige Verwendung frischen und alten Impfstoffes für vergleichende Beobachtungen wurde daher vermieden.

Das individuelle Moment.

Selbst unter Berücksichtigung der vorgenannten Kautelen kommt man bei verschiedenen Individuen nicht zu gleichen Reaktionserscheinungen. Um die Frage zu entscheiden, wie weit unter gleichen Bedingungen die Reaktionserscheinungen bei den einzelnen Individuen voneinander abweichen, wurden aus den Protokollen 67 Fälle ausgezogen. Diesen war zu gleicher Zeit ein und dasselbe Typhusantigen (vom Städtischen Untersuchungsamt Berlin bezogen, $\frac{1}{3}$ Oese im Kubikzentimeter enthaltend) in der Menge von 0,3 ccm subkutan am linken Brustbein-Schlüsselbeinwinkel injiziert worden.

Impfzeit: 20. XI. 1914, 11 Uhr vormittags.

Nachschau: 21. XI. 1914, 11 Uhr vormittags.

A	B	C	D
keinen Befund	eben erkennbare Rötung	deutliche Rötung mit mehr oder weniger deutlicher Infiltration	starke Rötung mit deutlicher Infiltration
18	21	25	3

Eine andere Reihe von 186 Leuten wurde an der gleichen Stelle der Brust mit 0,3 ccm eines vom Kaiserl. Gesundheitsamt in Berlin hergestellten Typhusimpfstoffes injiziert. Die Resultate waren folgende:

Impfzeit: 8. XII. 1914, 11 Uhr vormittags.

Nachschau: 9. XII. 1914, 11 Uhr vormittags.

A	B	C	D
keinen Befund	eben erkennbare Rötung	deutliche Rötung mit mehr oder weniger deutlicher Infiltration	starke Rötung mit deutlicher Infiltration
4	65	80	37

Bei 75 Leuten, die mit 0,5 ccm eines von den Höchster Farbwerken hergestellten Choleraimpfstoffes injiziert wurden, der $\frac{1}{3}$ Oese im Kubikzentimeter enthielt, wurden folgende Reaktionsbefunde erhoben:

Impfzeit: 20. III. 1915, 4 Uhr nachmittags.

Nachschau: 21. III. 1915, 4 Uhr nachmittags.

A	B	C	D
keinen Befund	eben erkennbare Rötung	deutliche Rötung mit mehr oder weniger deutlicher Infiltration	starke Rötung mit deutlicher Infiltration
5	41	17	10

Aus diesen Zahlen geht zweierlei hervor:

- 1) ist die Gesamtzahl der starken Reaktionen bei verschiedenen Antigenen verschieden. Das erklärt sich unschwer aus der quantitativ und qualitativ ungleichen Zusammensetzung der Antigene.
- 2) reagieren unter ganz gleichen Bedingungen verschiedene Menschen sehr verschieden.

Eine Erklärung für die Verschiedenheit der Intensität der individuellen Reaktion der Geimpften läßt sich nicht

geben. Wenn bei einer bestimmten optimalen Antigenmenge eine Reihe von Individuen überhaupt nicht mit sichtbaren Entzündungserscheinungen reagiert, während andere unter gleichen Bedingungen einen hochroten und infiltrierte Entzündungshof um die Injektionsstelle herum aufweisen, so ist das der Ausdruck einer konstitutionellen Eigentümlichkeit. Worin diese im einzelnen begründet ist, läßt sich bisher nicht sagen ¹⁾. Vielleicht ist für unsere Fälle eine verschiedene Reizbarkeit der Vasomotoren für starke oder ausbleibende sichtbare Entzündungserscheinungen die Hauptursache. Die Neigung einzelner Individuen, auf bakterielle Entzündungsreize besonders stark oder schwach zu reagieren, die nach der Typhusimpfung sich zeigte, trat bei denselben Individuen sehr häufig in gleichem Sinne auch nach der Choleraimpfung hervor.

Läßt sich bei wiederholter Impfung eine allergische Reaktion nachweisen?

Nachdem im vorstehenden ein Bild von der Mannigfaltigkeit der entzündlichen Erscheinungen gegeben wurde, die das gleiche Antigen unter gleichen Bedingungen bei verschiedenen Individuen auslöst, und umgekehrt davon, daß am gleichen Individuum geringe, leicht übersehbare Abweichungen in der Zusammensetzung des Antigens differente Entzündungsintensitäten zur Folge haben können, soll jetzt die Frage diskutiert werden, ob der Organismus bezüglich der Entzündungserscheinungen nach wiederholten Impfungen ein allergisches Verhalten erkennen läßt.

Wie bei der Vaccination konnte der Ablauf der entzündlichen Erscheinungen bei der Nachimpfung gegenüber der Erstimpfung quantitativ und zeitlich differieren. Es wurde

1) Es ist nach diesen Befunden mehr als zweifelhaft, daß die M. H. Fischerschen Anschauungen über das Wesen des entzündlichen Oedems zutreffen. Wäre das entzündliche Oedem allein durch Säurequellung des Gewebes bedingt — so hätte sich in der mitgeteilten Untersuchungsreihe eine große Gleichmäßigkeit der entzündlichen Erscheinungen zeigen müssen.

zunächst untersucht, ob Unterschiede in der Entzündungsintensität zwischen der Vor- und Nachimpfung sich nachweisen ließen. 67 Leute wurden am 20. III. 1915 mit 0,5 ccm eines aus Kiel bezogenen Choleraimpfstoffes (enthaltend 5000 Mill. Keime in 1 ccm) subkutan injiziert. Am 21. III. wurden die Reaktionserscheinungen notiert. Dieselben Mannschaften wurden am 26. III. 1915 mit dem gleichen Impfstoff nachgeimpft, und zwar wurden 0,5 ccm an unvorgeimpfter Stelle und 0,5 ccm an vorgeimpfter Stelle appliziert. Die Reaktionen wurden nach 24 Stunden in gleicher Weise wie das erste Mal zu Protokoll gebracht. Vergleicht man die Reaktionen nach der ersten Impfung mit den nach der zweiten Impfung an unvorgeimpfter Stelle abgelesenen, so ergibt sich folgendes: Bei 24 Leuten waren gleiche Reaktionen notiert. Bei 14 Leuten waren die Reaktionen nach der ersten Impfung deutlicher als an der unvorgeimpften Stelle der zweiten Impfung. Umgekehrt waren bei 25 Leuten die Erscheinungen an der unvorbehandelten Nachimpfungsstelle deutlicher als bei der Erstimpfung. Die Unterschiede waren im allgemeinen gering und, wie sich aus dem Gesagten ergibt, nicht gesetzmäßig. Ein allergisches Verhalten des Gesamtorganismus kann aus den Entzündungserscheinungen dieser Untersuchungsreihe nicht abgelesen werden.

An einer Reihe von 64 Leuten, die am 20. XI. 1914 mit 0,3 ccm Typhusschutzimpfstoff (vom Städtischen Untersuchungsamt Berlin bezogen) injiziert waren und am 26. mit 0,8 ccm des gleichen Impfstoffes nachinjiziert wurden, standen die Verhältnisse folgendermaßen: Auch in diesen Fällen war das Injektionsquantum bei der 2. Impfung verteilt, und zwar wurde die Hälfte (0,4 ccm) an vorgeimpfter Stelle, die restlichen 0,4 ccm an unvorgeimpfter Stelle appliziert. Die Reaktionen wurden nach 24 Stunden abgelesen. 22 mal war die Reaktion zwischen der mit 0,3 und der 7 Tage später mit 0,4 ccm geimpften Stelle gleich. 8 mal war an der am 20. XI. 1914 mit 0,3 ccm injizierten Stelle die Reaktion wenig stärker als an der am 26. mit 0,4 ccm injizierten Hautpartie. 34 mal dagegen war umgekehrt die später mit 0,4 ccm injizierte Stelle intensiver als die am 20. mit 0,3 ccm behandelte gerötet.

Eine andere Reihe von 54 Leuten wurde am 23. mit 0,3 ccm des gleichen Impfstoffes behandelt und am 29. mit demselben Impfstoff in der Menge von 0,8 ccm nachbehandelt. Wiederum war die Menge auf 2 Hautstellen (je 0,4 ccm) bei der Nachimpfung verteilt. Das Resultat war folgendes: In 21 Fällen war kein Unterschied zwischen der Impfstelle vom 29. und der vom 23. 5mal war die Impfstelle vom 23. stärker gerötet als die unvorbehandelte Impfstelle vom 29. 28mal war die Impfstelle vom 29. stärker gerötet, als die vom 23. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß trotz der größeren Antigenmenge (0,4 ccm an der unvorgeimpften Stelle bei der 2. Impfung gegenüber 0,3 ccm bei der Erstimpfung) die Reaktionsunterschiede unbedeutend waren und sich zwanglos aus der größeren Antigenmenge erklären lassen. Die wenigen Fälle, in denen bei der 2. Impfung eine geringere Reaktion notiert wurde, erlauben nicht, aus diesem Grunde ein allergisches Verhalten des Organismus anzunehmen. Es kann gegen diese Beobachtungen bezüglich der Allergie eingewandt werden, daß das Intervall zwischen 1. und 2. Impfung nicht groß genug war, um allergische Symptome deutlich werden zu lassen. In Analogie mit der Vaccination wären die ersten allergischen Zeichen erst etwa nach dem 10. Tage zu erwarten. Im folgenden wurden daher die Ergebnisse dreier Impfungen miteinander verglichen. Zwischen je 2 Impfungen liegt ein zeitliches Intervall von 6 Tagen. Zwischen der 1. und 3. demnach ein solches von 12 Tagen. Die Injektionsmenge beträgt bei der 1. Impfung 0,3 ccm, bei der 2. 0,5 ccm, bei der 3. 1,0 ccm. Bei den Nachimpfungen wurde, wie vorher, die Antigenmenge geteilt — eine Hälfte an der geimpften, die andere Hälfte an einer unvorbehandelten Hautstelle — eingespritzt. Die in der Tabelle zum Vergleich aufgenommenen Reaktionen wurden stets an bisher unvorbehandelten Stellen der Haut 24 Stunden nach der Impfung abgelesen. Die Leute der Gruppen I und II wurden mit einem vom Untersuchungsamt Berlin bezogenen Impfstoff (A), die Leute der Gruppe III mit einem solchen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt Berlin bezogenen (B) vor- und nachbehandelt (cfr. Tabelle I).

Tabelle I.

Geimpft mit	Gruppe I		Gruppe II		Gruppe III		Proz. aller zum ersten Male Nachgeimpften	Proz. aller zum zweiten Male Nachgeimpften
	Impfstoff A		Impfstoff A		Impfstoff B			
	Vor- impfung 20. XI. 14	Vor- impfung 20. XI. 14	Vor- impfung 23. XI. 14	Vor- impfung 23. XI. 14	Vor- impfung 8. XII. 14	Vor- impfung 8. XII. 14		
Datum d. Impfungen	1. Nach- impfung 26. XI. 14	2. Nach- impfung 2. XII. 14	1. Nach- impfung 29. XI. 14	2. Nach- impfung 5. XII. 14	1. Nach- impfung 14. XII. 14	2. Nach- impfung 20. XII. 14		
Intervall in Tagen	6	12	6	12	6	12	6	12
Reaktion der Nach- impfung kleiner als Reaktion der Vor- impfung	8	25	5	23	23	23	20,3	41,3
Reaktion der Nach- impfung gleich d. Reaktion der Vor- impfung	22	23	21	18	26	24	38,9	37,7
Reaktion der Nach- impfung größer als Reaktion der Vorimpfung	34	9	28	15	10	12	40,7	20,9
Summe der beobach- teten Fälle	64	57	54	56	59	59	176	172

Aus dieser Tabelle geht folgendes hervor: Mit zunehmendem zeitlichen Intervall nimmt trotz wachsender Injektionsmengen die Reaktion der Nachimpfung im Vergleich mit der der Vorimpfung an Intensität ab. Die Unterschiede sind verschieden nach der Zusammensetzung der Antigene. Bei einem Antigen, das überhaupt stärkere entzündliche Reaktionen auslöst (Impfstoff B unserer Tabelle) kann schon ein geringer Antigenüberschuß (0,5 ccm an unvorgeimpfter Stelle gegen 0,3 ccm) das allergische Phänomen bei der Nachimpfung überhaupt verwischen. Auch kommt die Allergie nicht zum Vorschein, wenn die Injektionsdosis, die am Orte der Reinjektion appliziert wird, die der Erstimpfung beträchtlich übersteigt. (1,0 ccm Impfstoff A bei der 2. Nachimpfung gegen 0,3 ccm bei der Vorimpfung).

In der Untersuchungsreihe der Tabelle I wurden die Reaktionen am gleichen Menschen miteinander verglichen.

Aus einer anderen Reihe von 50 gleichmäßig miteinander geimpften und regelmäßig 28 Stunden nach der Impfung nachgeschauten Leuten wurde folgende Reaktionen notiert:

	28 ^h nach der 1. Impfung	28 ^h nach der 2. Impfung	28 ^h nach der 3. Impfung
deutliche Rötung mit mehr oder weniger deutlicher Infiltration	21	14	11
starke Rötung mit deut- licher Infiltration	11	8	7

Daraus geht ebenso wie aus Tabelle I hervor, daß die starken Reaktionen trotz zunehmender Antigendosis mit steigendem zeitlichen Intervall abnehmen.

Die Impfungen gegen Typhus wurden nach 7 Monaten bei der Kompagnie wiederholt. Es zeigte sich ein Fortbestehen der Allergie insofern, als bei einer großen Reihe von Leuten bei der 5. Nachimpfung auf 0,5 Typhusantigen gleichmäßig die Reaktionen ausblieben, obwohl das Antigen bei unvorbehandelten Leuten deutliche Entzündungserscheinungen zur Folge hatte.

Die Ergebnisse der vergleichenden Beobachtungen können etwa folgendermaßen zusammengefaßt werden: Bei gesunden Menschen bewirkt die erstmalige Injektion bestimmter Antigenmengen unter die Haut fast ausnahmslos Entzündungserscheinungen. Diese sind bezüglich ihrer Intensität abhängig von Art und Menge des Antigens und von individuellen Eigenschaften des Geimpften. Bei wiederholten Impfungen sind die Entzündungserscheinungen nach Ablauf eines Intervalls von mindestens 10 Tagen in der Richtung modifiziert, daß bei einer Reihe von Individuen die Injektion größerer Antigenmengen mit geringeren Entzündungserscheinungen beantwortet wird ¹⁾.

1) M. Matthes und A. Rautenberg (Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 13) fanden — wie in diesem Zusammenhange erwähnt zu werden verdient — daß die tryptischen Verdauungsprodukte der Typhusbacillen, die eine wirksame Vaccine darstellen, beim Typhuskranken wesentlich geringere lokale entzündliche Reaktionen auslösen, als beim gesunden Menschen.

Vergleichende Untersuchung der Nachimpfungsreaktionen an vorbehandelten und unvorbehandelten Hautstellen.

Das im vorstehenden geschilderte allergische Verhalten des Gewebes kann seine Ursache haben in einer „Umstimmung“ desselben, der zufolge die Reaktionen anders ausfallen, oder in einer rascher einsetzenden Veränderung des Antigens beider Nachimpfung. Eine „Umstimmung des Gewebes“ müßte am raschesten und weitgehendsten am Orte der Injektion einsetzen, so daß bei der Nachimpfung zwischen den Reaktionen vorbehandelter und unvorbehandelter Hautstellen unter sonst gleichen Bedingungen Unterschiede zu erwarten wären.

Solche Unterschiede lassen sich in der Tat bei geeigneter Versuchsanordnung mit großer Deutlichkeit zeigen. Bei einer Reihe von 180 mit Typhusantigen geimpften Leuten zeigten deutliche Rötung mit mehr oder weniger deutlicher Infiltration resp. starke Rötung mit deutlicher Infiltration:

28 ^h	nach der 1. Impfung	104	57,8 Proz.
28 ^h	„ „ 2. „ an unvorbehandelter Stelle	126	70 „
	„ 1mal vorbehandelter Stelle	48	26,7 „
28 ^h	„ „ 3. „ unvorbehandelter Stelle	91	50,7 „
	„ 2mal vorbehandelter Stelle	32	17,8 „

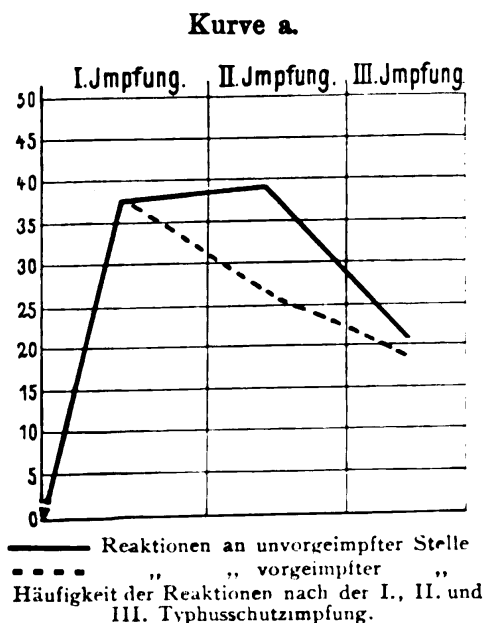
Die Unterschiede liegen durchweg in der gleichen Richtung. Die vorbehandelte Hautstelle zeigt um diese Zeit eine schwächere Reaktion als die unvorbehandelte. Oft ist der Unterschied so stark, daß die vorbehandelte Hautstelle keine sichtbaren Entzündungszeichen erkennen läßt, während die unvorbehandelte unter gleichen Bedingungen zu gleicher Zeit eine deutliche Rötung mit Infiltration aufweist. Das war unter 144 Typhusimpfungen in 7,1 Proz. der Fälle nach der 1. und in 4,3 Proz. der Fälle nach der 2. Nachimpfung festzustellen. Bei Choleraimpfungen fand sich bei der 1. Nachimpfung in 8,6 Proz. der Fälle ein solcher Unterschied, bei einem Intervall von 6 Tagen zwischen der 1. und 2. Impfung.

Es wurden bisher Unterschiede bemerkt, die 28 Stunden nach der Injektion des Antigens abgelesen wurden. Hier

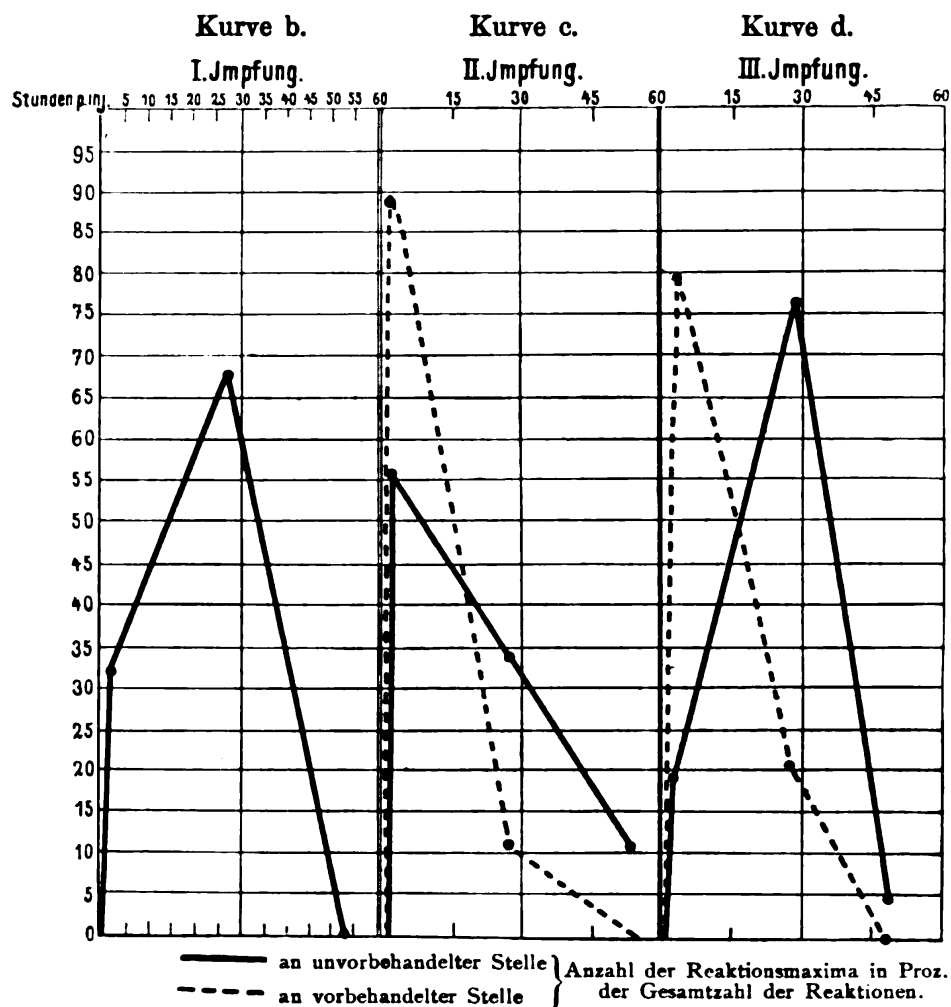
lag das Optimum der Reaktionsdifferenzen, und deshalb war dieser Zeitpunkt gewählt. Diese 28 Stunden p. inj. abgelesenen Reaktionsunterschiede können bedingt sein entweder durch einen verschieden raschen Ablauf des Entzündungsvorganges, wobei die gleiche Intensität nur zu verschiedenen Zeiten erreicht ist, oder dadurch, daß überhaupt die Intensität der Entzündung auf der vorgeimpften Seite hinter der der unvorgeimpften zurückbleibt. Um das zu entscheiden, wurde zu verschiedenen Zeiten der Entzündungseffekt abgelesen, und zwar 4, 28 und 52 Stunden nach der Injektion. Das konnte bei 50 Leuten durchgeführt werden. Deutliche und starke Reaktionen zeigten von diesen

nach der 1. Impfung		37 = 74 Proz.
„ „ 2. „	an unvorbehandelter Stelle	38 = 76 „
	„ vorbehandelter „	26 = 52 „
„ „ 3. „	„ unvorbehandelter „	21 = 42 „
	„ vorbehandelter „	19 = 38 „

Trägt man diese Zahlen in eine Kurve ein (Kurve a) so wird folgendes deutlich: Die Reaktionen an unvorbehandelter Stelle zeigen erst nach der 3. Impfung eine wesentliche Abnahme, während die Kurve der unter sonst gleichen Bedingungen an 1mal resp. 2mal vorbehandelten Hautstellen abgelesenen Reaktionen sofort steil abfällt. Die folgenden Kurven verdeutlichen, in welche Zeit nach der Impfung das Reaktionsmaximum fällt. Die Reaktionsmaxima sind im Prozent der Gesamtzahl der Reaktionen nach ihrer relativen zeitlichen Lage zur Injektion eingetragen in die Kurven b, c und d (p. 176). Es zeigt sich folgendes: Nach der 1. Impfung fällt der Höhepunkt der meisten Reaktionen



nach 28 Stunden p. inj. Nach der 2. Impfung sind die Reaktionsmaxima bereits nach 4 Stunden erreicht, und zwar an unvorbehandelter Stelle in 21 Fällen von 38 Reaktionen im ganzen. An vorbehandelter Stelle dagegen 23mal von 26 Fällen im ganzen. Das heißt: in allen Fällen sind die



Reaktionen beschleunigt, weitaus am deutlichsten aber an den vorbehandelten Stellen. Nach der 3. Impfung wird der Unterschied noch klarer. Schwer erklärlich ist der Umstand, daß der Gipfel der Kurve für die Reaktionen an unvorbehandelter Stelle merkwürdigerweise erst nach 28 Stunden sich findet. In absoluten Zahlen ausgedrückt, ist der Unterschied gegen die 2. Impfung aber unwesentlich (16 gegen 13). Vielleicht

finden sich unter diesen Leuten, die nach der 3. Impfung noch so deutliche Reaktionen aufweisen, diejenigen, die überhaupt langsam reagieren. Zweierlei ist also aus den Kurven b, c und d deutlich: vorbehandelte Hautstellen reagieren unter sonst gleichen Bedingungen seltener und rascher als unvorbehandelte.

Das Verhalten weist auf eine lokale Immunität des vorbehandelten Gewebes hin. Wassermann und Citron¹⁾ fanden bereits auf anderem Wege, „daß Gewebe, die mit Infektionsstoffen in Berührung kommen, lokal auf diese in immunisatorischer Hinsicht reagieren“. Sie konnten nämlich zeigen, daß je nach der Eingangspforte für die Typhusbacillen das Serum oder das Pleuraexsudat resp. das Peritonealexsudat eine auffallend hohe Wirksamkeit gegen Typhusbacillen zeigte.

Es blieb zu untersuchen, ob das beobachtete allergische Verhalten des Gewebes abhängig ist von der Art des zur Vorbehandlung benützten Antigens. A priori mußte das angenommen werden. Um die Frage zu beantworten, wurde eine Reihe von Leuten, die mit Typhusantigen vorbehandelt waren (0,5 ccm), nach 8 Tagen mit Choleraantigen nachgeimpft (je 0,5 ccm an unvorbehandelter und 0,5 ccm an korrespondierender vorbehandelter Stelle). Von 30 so untersuchten Fällen zeigten 10 = 33 Proz. an der mit Typhus vorbehandelten Stelle 24 Stunden p. inj. keine Reaktion, wohl aber eine solche an der unvorbehandelten Injektionsstelle, während von 49 gleichzeitig mit dem gleichen Antigen vor- und nachbehandelten Leuten 13 an vorbehandelter Stelle 24 Stunden nach der 2. Impfung keine Reaktion aufwiesen (= 26,5 Proz.). Daraus geht hervor, daß das beobachtete refraktäre Verhalten des Gewebes nach einer durch Bakterien-eiweiß hervorgerufenen Entzündung nicht zu deuten ist im Sinne einer lokalen Immunisierung; in solchem Falle hätte eben die Reaktion nach Injektion von Choleraantigen bei unseren Leuten gleichmäßig ausfallen müssen an unvorbehan-

1) Wassermann und Citron, Deutsche med. Wochenschr., 1905, No. 31, p. 573, und Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., 1905.

delten und mit anderen Antigenen vorbehandelten Stellen. Das beobachtete Phänomen kann als unspezifische Allergie bezeichnet werden. Es soll damit nicht in Abrede gestellt sein, daß die betreffende Hautstelle überhaupt spezifisch reagiert. Das wird sie ebenso wie andere Injektionsorte, an denen die Reaktionen bei den Nachimpfungen seltener und schwächer auftreten. Zu dieser allgemeinen „Umstimmung des Gewebes“ muß aber an den vorbehandelten Impforten ein anderes Moment hinzutreten, das die auffälligen Reaktionsunterschiede gegenüber unvorbehandelten Hautstellen bedingt. Da das Phänomen unabhängig von der Art des vorausgegangenen Entzündungsreizes auftritt, ist die Erklärung schwerlich in immunisatorischen Vorgängen zu suchen; am wahrscheinlichsten ist eine durch die vorausgehenden Reaktionen bedingte Ermüdung der Vasomotoren des Entzündungsfeldes, zumal die Erscheinung nach einer Pause von 8—10 Tagen bereits an Deutlichkeit verliert. Genaueres müssen histologische Untersuchungen lehren.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen an Schutzgeimpften erfüllen das eingangs erwähnte Postulat, daß der Eintritt der Immunität den durch die Reinjektion des Antigens hervorgerufenen Entzündungsprozeß modifiziert. Die Erscheinung läßt sich nur unter bestimmten Kautelen deutlich machen. Deshalb muß ihr eine praktische Bedeutung in dem Sinne abgesprochen werden, daß man aus der Art des Entzündungsablaufs nach der Reinjektion auf eingetretene oder wieder erloschene Immunität schließen kann.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Klinik in Basel (Direktor: Professor Dr. R. Staehelin).]

Ueber die anaphylaktische Reaktion des Meerschweinchendarmes.

Von Dr. **Rudolf Massini**,
Privatdozent und Sekundararzt der Klinik.

Mit 10 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Februar 1916.)

In der Biochemischen Zeitschrift¹⁾ haben M. Guggenheim und W. Löffler einen Apparat zu Versuchen am überlebenden Darm nach Magnus beschrieben, und zwar speziell für Meerschweinchen. Der Darm wird in Ringerlösung (ca. 100 ccm) suspendiert, seine Kontraktionen werden durch einen Stirnschreibhebel auf berufter Trommel registriert. Die Flüssigkeiten, mit welchen der Darm reagieren soll, werden der Ringerlösung zugefügt. Ich habe diese Apparatur verwendet, um die anaphylaktische Reaktion am Meerschweinchendarm nachzuweisen.

Die 2 ersten Kurven zeigen die typische anaphylaktische Reaktion des Darmes eines aktiv anaphylaktischen Meer-



Kurve 1. Darm von Meerschweinchen V/40, aktiv sensibilisiert mit 0,5 ccm Menschenserum ip. am 15. IX. 1915, getötet durch Verbluten am 28. IX. 1915.

schweinchens in Form eines starken Anstieges der Kurve nach einer kurzen Latenz von einigen Sekunden. Eine zweite

1) Bd. 72, p. 303.

Reaktion läßt sich durch neue Zugabe von Serum nicht erreichen. Das Serum der Patienten, das zur Auslösung der Reaktion verwendet wurde, reagierte nicht mit einem normalen Meerschweinchendarm.



Kurve 2. Darm von Meerschweinchen V/40, aktiv ip. sensibilisiert mit 0,5 ccm Menschenserum am 15. IX. 1915, getötet durch Verbluten am 28. IX. 1915.

Kurve 3 und 4 zeigen die Wirkung bei passiver Anaphylaxie gegen Menschenserum und gegen Hammelblutkörperchen.



Kurve 3. Darm von Meerschweinchen V/66, passiv sensibilisiert am 26. X. 1915 mit 4 ccm Menschenserum-Kaninchenserum I/86 + 1 ccm Menschenserum-Kaninchenserum I/115, getötet durch Nackenschlag am 27. X. 1915.



Kurve 4. Darm von Meerschweinchen V/60, passiv sensibilisiert mit Hammelblut-Kaninchenserum (I/144, Titer 0,05) + Hammelblut-Kaninchenserum (II/92, Titer 0,01) aa 2,5 ip. am 31. X. 1915, getötet am 1. XI. 1915 durch Nackenschlag.

Die 5. Kurve wurde mit einem Darm erhalten, welcher von einem Meerschweinchen stammte, das in Aethernarkose verblutet wurde und dessen Gefäßsystem mit Ringerlösung so lange durchspült wurde, bis diese klar abfloß. Die Ausschläge dieses Darmes sind gleich stark wie diejenigen, welche

von anaphylaktischen Meerschweinchen stammen, welche durch Nackenschlag oder durch einfaches Verbluten getötet wurden.



Kurve 5. Darm von Meerschweinchen V/47, sensibilisiert mit Menschenserum ip. 1 ccm am 15. IX. 1915, getötet durch Verbluten in der Narkose. Nachspülung des Gefäßsystems mit Ringerlösung.

Der anaphylaktische Reaktionskörper ist nicht identisch mit β -Imidazolyläthylamin, wie dies vermutet oder sogar angenommen worden ist¹⁾. Der Meerschweinchendarm reagiert noch auf β -Imidazolyläthylamin in der Antianaphylaxie (Kurve 6). Nach Injektion von β -Imidazolyläthylamin erhält man keine Antianaphylaxie, weder gegen β -Imidazolyläthylamin noch gegen das Antigen (Kurve 7 und 8).



Kurve 6. Darm von Meerschweinchen V/40, aktiv sensibilisiert am 15. IX. 1915 mit 0,5 ccm Menschenserum ip., getötet durch Verbluten am 28. IX. 1915.



Kurve 7. Darm von Meerschweinchen V/78, sensibilisiert am 29. I. 1916 mit 1 ccm Menschenserum ip., getötet durch Verbluten am 11. II. 1916.

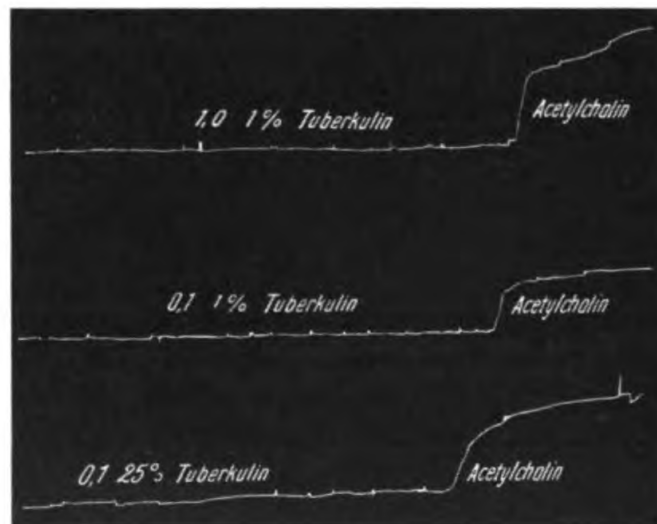
Der Nachweis einer aktiv erworbenen Anaphylaxie gegen Tuberkulin bei mit Tuberkelbacillen infizierten Meerschweinchen

1) Literatur bei R. Doerr in Kolle-Wassermann, Handb. der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 2, und R. Doerr in Ergebn. der Immunitätsforschung usw., Bd. 1, 1914.



Kurve 8. Darm von Meerschweinchen V/83, aktiv anaphylaktisch gemacht durch Injektion von 1 ccm Menschenserum ip. am 3. II. 1916, getötet durch Verbluten am 16. II. 1916.

gelang nicht. Ebenso war das Resultat ein negatives beim Versuch der passiven Uebertragung von Anaphylaxie gegen Tuberkulin durch Injektion von Serum einer an doppelseitiger Nierentuberkulose leidenden Patientin. Die Kontraktion des Darmes auf Zugabe von Azetylcholin zeigte, daß der Darm noch reaktionsfähig war.



Kurve 9. Darm von Meerschweinchen V/38, injiziert am 8. IX. 1915 mit Tuberkelbacillenreinkulturen, getötet am 2. IX. 1915.



Kurve 10. Darm von Meerschweinchen V/59, passiv sensibilisiert mit Serum einer Patientin mit Nierentuberkulose am 31. X. 1915, getötet durch Nackenschlag am 1. XI. 1915.

Die oben abgebildeten Kurven sind Beispiele einer größeren Anzahl von Versuchen, welche gleichsinnig ausfielen.

Der Vorzug der Methode ist der, daß man in einfacher objektiver Art das Bestehen der Anaphylaxie nachweisen kann.

Ein Darm reicht für eine ziemliche Anzahl von Versuchen aus, so daß an Tiermaterial gespart wird.

Meine Resultate sind neue Beweise für die Ansicht, daß die anaphylaktische Reaktion zum mindesten nicht ausschließlich im Blute vor sich geht, sondern daß diese auch in einem Vorgang in den Zellen besteht im Sinne von Doerr. Gleiche Resultate hat Dale¹⁾ am anaphylaktischen Meerschweinchenuterus erhalten.

Gegen Tuberkulin konnte bis jetzt weder aktive noch passive Anaphylaxie nachgewiesen werden.

β -Imidazolyläthylamin ist nicht identisch mit dem anaphylaktischen Reaktionskörper.

Zusammenfassung.

1) Die anaphylaktische Reaktion läßt sich leicht und objektiv am in Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm nachweisen.

2) Die anaphylaktische Reaktion besteht in einer Reaktion der Zellen und ist nicht oder nicht ausschließlich eine Reaktion des Blutes.

3) Gegen Tuberkulose konnte keine aktive oder inaktive Anaphylaxie nachgewiesen werden.

4) β -Imidazolyläthylamin ist nicht identisch mit dem anaphylaktischen Reaktionskörper.

Bemerkung zu vorstehender Arbeit von Massini: Ueber die anaphylaktische Reaktion des Meerschweinchendarmes.

Von E. Friedberger.

In der Arbeit ist nicht erwähnt, daß ich bereits 2 Jahre zuvor in Gemeinschaft mit Kumagai entsprechende Versuche am isolierten Darm präparierter Tiere angestellt habe (diese Zeitschr., Bd. 22, p. 301). Die betreffenden Versuche von Massini stellen lediglich eine Bestätigung unserer Befunde dar.

1) Literatur s. R. Doerr, Ergebn. der Immunitätsforschung usw. von Prof. Weichardt, Bd. 1, 1914.

Nachdruck verboten.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelm-Instituts
für Landwirtschaft zu Bromberg (Leiter: W. Pfeiler).]

**Ueber Versuche zur Schutzimpfung gegen Schweinepest
mit sensibilisiertem Virus.**

Von

Dr. W. Pfeiler und Dr. R. Standfuß,
wissenschaftlich-technischem
Hilfsarbeiter.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Februar 1916.)

Im Jahre 1914 haben Bridré und Bocquet¹⁾ Versuche zur Immunisierung gegen die Pockenkrankheit der Schafe mit Hilfe von sensibilisiertem Virus mitgeteilt. Bei Anstellung der Versuche leitete sie der Gedanke, einen Impfstoff gegen die Pocken herzustellen, der den Schafen eine sichere und dauernde Immunität verleiht, zugleich aber unschädlich ist und eine weitere Ansteckung durch den Impfstoff bzw. durch geimpfte Tiere ausschließt. Sie setzten zu diesem Zwecke Pockenvirus längere Zeit der Einwirkung von Immunserum aus und verwandten alsdann den zentrifugierten Virusbrei zur subkutanen Vaccination. In besonderen Versuchen überzeugten sie sich, daß Virusbrei, der 39 Stunden lang der Einwirkung des Immunserums ausgesetzt gewesen war, bei den Impftieren keine Pockenreaktion, sondern nur ein leichtes, in wenigen Tagen verschwindendes Oedem erzeugte und schon nach 48 Stunden zur Immunität für die Dauer eines Jahres führte.

Das neue Verfahren fand im Auftrage der französischen Regierung ausgedehnte Anwendung bei algerischen Schafen, welche nach Frankreich importiert werden sollten. Es wurden im ganzen 1 300 000 Schafe geimpft, ohne daß ein einziger Mißerfolg eingetreten wäre. Die Zahl der geimpften franzö-

1) Revue générale de Médecine vétérinaire, T. 23, 1914, No. 267.

sischen Schafe betrug über 8000; die Impfung verlief mit dem gleich günstigen Ergebnis.

Das Generalgouvernement verlangte daher die Anwendung der neuen Immunisierungsmethode bei allen für den Import bestimmten algerischen Schafen. Der französische Landwirtschaftsminister hat diesem Wunsche dadurch Ausdruck gegeben, daß seit dem 1. Januar 1913 alle Schafe, die nach Frankreich eingeführt werden sollen, 30 Tage vorher der Impfung gegen die Pocken unterworfen werden müssen. Ein Dekret vom 29. April 1913 bestimmt weiterhin die obligatorische Vaccination der algerischen Schafe für solche Bezirke, in denen die Pocken ausgebrochen sind (*vaccination de nécessité*). Die Vaccination ist auch zum Zwecke der reinen Schutzimpfung in nicht von der Pockenseuche bedrohten Beständen erlaubt (*vaccination de précaution*). Während bei Anwendung des alten Verfahrens der Klavelisation (Impfung mit reiner Lymphe) oder der gleichzeitigen Serumbehandlung stets die Gefahr der Einschleppung der Pockenseuche bestand bzw. durch diese Methode ständig Pockenherde geschaffen wurden, haben sich solche Fälle mit Einführung der Impfung unter Benutzung des sensibilisierten Virus nicht mehr ereignet.

Die Versuche von Bridré und Bocquet, die sich im übrigen in den Grundgedanken an die Versuche von Besredka zur Immunisierung gegen Menschentyphus anlehnen, verdienen daher, auch in der deutschen Veterinärmedizin beachtet zu werden. Sie waren mit ihren günstigen Erfolgen für uns die besondere Veranlassung zur Aufnahme der hierunter beschriebenen Prüfung der Frage der passiv-aktiven Immunisierung gegen Schweinepest.

Es wurden im ganzen 3 Versuchsreihen angestellt.

1. Versuch.

Die Herstellung des Impfstoffes war folgende: Aus Milz und Nieren von Ferkeln, welche an akuter Schweinepest gestorben waren, wurde mit Hilfe der Fleischzerkleinerungsmaschine ein Brei hergestellt. Derselbe wurde durch eine einfache Schicht Mull geseiht und etwa 1½ Stunden bei 3 bis

4000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert. Der Bodensatz wurde mit nicht karbolisiertem Schweinepestserum der Firma Gans¹⁾ im Verhältnis von 1:100, 1:200, 1:500 und 1:1000 vermischt und 4 Tage bei Zimmertemperatur im Dunkeln gehalten. Sodann wurde er ausgeschleudert (etwa 1 Stunde) und mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Auf diese Weise wurden 4 verschiedene Impfstoffe gewonnen, welche sich durch das Verhältnis der verwendeten Virusmenge zu der Menge des Immunserums (Sensibilisierungsverhältnis), sowie auch durch die absolute Menge des Virusmaterials unterschieden, und zwar erhielten wir 2 Dosen Impfstoff, welche je 0,25 Virus enthielten, das in einem Verhältnis 1:100 sensibilisiert worden war, 2 weitere Dosen mit 0,25 Virus und dem Sensibilisierungsverhältnis 1:200, sodann 2 Dosen, welche je 0,25 Virus enthielten (Sensibilisierungsverhältnis 1:500), und endlich 2 Dosen zu je 0,025 Virus mit einem Sensibilisierungsverhältnis 1:1000. Mit jedem der 4 Impfstoffe wurden am 5. März 1914 je 2 Ferkel behandelt.

Schon am 10. März zeigten sich alle Tiere krank. Die Freßlust ließ nach, einige Tiere zeigten blaurote Ohren, unsicheren Gang, Schwanken im Hinterteil und Krämpfe.

Am 11. März verendete ein Tier (658) und am 13. März 3 weitere Tiere (652, 654, 657).

Bei der Zerlegung zeigten sich die Veränderungen schwerer, akuter, septikämischer Schweinepest. In den Organen waren bei einem Teil der Tiere Rotlaufstäbchen nachzuweisen. Außerdem wurde durch die bakteriologische Untersuchung der *Bac. suipestifer* [Kunzendorf²⁾] ermittelt. Das Vorhandensein von Rotlaufstäbchen in den Or-

1) Für die Ueberlassung des Serums für die Zwecke der Versuche sei auch an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen.

2) Bezüglich der Benennung dieses Mikroorganismus und seiner Stellung im System der Bakterien sei auf die Arbeit von Pfeiler und Engelhardt, „Die Fleischvergiftung in Bobrau im Juli 1913, nebst Bemerkungen über die Feststellung von fleischvergiftenden Bakterien und ihre Bezeichnung“, Mitteilungen des Kaiser Wilhelms-Instituts für Landwirtschaft in Bromberg, Bd. 6, 1914, Heft 4, hingewiesen.

ganen war auf die etwa 8 Tage vorher stattgehabte Rotlaufimpfung zurückzuführen.

Mit Rücksicht auf diese Erfahrung impften wir die übrigen Ferkel mit reichlichen Dosen Rotlaufserum. Trotzdem starben noch 3 Tiere, am 14. (656), am 15. (655) und 19. März (653). Auch sie wiesen die kennzeichnenden Veränderungen der akuten Schweinepest auf; Rotlaufstäbchen konnten jedoch nicht mehr nachgewiesen werden. Dagegen wurde, wie fast immer bei schwerem Krankheitsverlauf, der *Bac. suispestifer* (Kunzendorf) isoliert.

Ein Ferkel (651) erholte sich wieder, kümmerte jedoch und wurde am 25. März in den Schweinepeststall zur Prüfung seiner Widerstandsfähigkeit gesetzt. Ende Juni besserte sich sein Ernährungszustand, und es wurde in der Folge wiederholten schweren Infektionen mit Schweinepestvirus ausgesetzt, indem es vom 11. Juni bis 10. August in Buchten gehalten wurde, in denen im Laufe dieser Zeit mehrere Tiere an Schweinepest erkrankten bzw. starben. Es überstand alle diese Ansteckungsversuche und wurde später als gesund ausgeschieden.

Uebersichtstabelle I.

No.	Behandlung	Geschichte
651	5. III. 1914: 0,025 Virus, sensibilisiert im Verhältnis 1:1000.	10. III.: Verminderte Freßlust. 13. III.: 20 ccm Rotlaufserum. 25. III.: Hat sich wieder erholt, nur etwas struppig, wird in den Schweinepeststall gesetzt. 14. IV.: Zunehmende Abmagerung. 30. V.: Kümmerer. 30. VI.: Ernährungszustand etwas gebessert. 11.—13. VII.: Das an Schweinepest erkrankte Ferkel 716 wird in die Bucht gesetzt und stirbt daselbst am 13. VII. 3. VIII.: Das in derselben Bucht gehaltene Ferkel 737 stirbt an Schweinepest. Zugleich befindet sich in dieser Bucht ein schwerkrankes Ferkel 732. 8. VIII.: Wird in eine desinfizierte Bucht gesetzt. 10. VIII.: Das in derselben Bucht lebende Ferkel 710 erkrankt. 11. VIII.: Wird in eine andere desinfizierte Bucht gesetzt und bleibt gesund.

No.	Behandlung	Geschichte	Zerlegungsbefund	Bakteriolog. Befund
655	5. III. 1914: Virus, sensibilisiert im Verhältnis 1:1000.	10. III.: Verminderte Freßlust. 12. III.: Tonisch-klonische Krämpfe. 13. III.: Hinterteil völlig gelähmt, 40 ccm Rotlaufserum. 15. III.: Gestorben.	Entzündung der Herzlappen der Lunge, Milzschwellung, punktförmige Blutungen in den Nieren, blutige Entzündung der Magenschleimhaut, hanfkorn- bis linsengroße, wenig erhabene, konzentrisch geschichtete Schorfe in der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms. Blutige Entzündung der Darmlymphknoten.	Bac. suipestifer (Kunzen-dorf).
652	5. III. 1914: 0,05 g Virus, sensibilisiert im Verhältnis 1:500	10. III.: Verminderte Freßlust. 12. III.: Schwerkrank, blaurote Ohren. 13. III.: Gestorben.	Punktförmige Blutungen unter dem Lungenfell, Entzündung des linken Herzlappens, Milzschwellung, blutige Entzündung der Magenschleimhaut, punktförmige Blutungen und ein überlinsengroßer diphtherischer Herd im Dickdarm. Blutige Entzündung der Dickdarmlymphknoten.	Rotlaufstäbchen u. Bac. suipestifer (Kunzen-dorf)
656	5. III. 1914: 0,05 g Virus, sensibilisiert im Verhältnis 1:500.	10. III.: Verminderte Freßlust. 10. III.: 40 ccm Rotlaufserum. 14. III.: Gestorben.	Entzündung der Herzlappen der Lunge, Milzschwellung, blutige Entzündung der Magenschleimhaut. Einige hanfkorn- bis erbsengroße, wenig erhabene Geschwüre in der Dickdarmschleimhaut. Blutige Entzündung der Darmlymphknoten.	Keine spezifischen Erreger.
653	5. III. 1914: 0,25 g Virus, sensibilisiert im Verhältnis 1:1000.	10. III.: Verminderte Freßlust. 13. III.: 20 ccm Rotlaufserum. 15. III.: Offensichtlich krank. 19. III.: Gestorben.	Herdförmige Entzündung in den Spitzen und Herzlappen der Lunge, Milzschwellung, ein linsengroßes Geschwür in der Magenschleimhaut, Entzündung der Dickdarmlymphknoten.	Bac. suipestifer (Kunzen-dorf).
657	5. III. 1914: 0,25 g Virus, sensibilisiert im Verhältnis 1:1000.	10. III.: Verminderte Freßlust. 12. III.: Blaufärbung der Ohren und Bauchhaut. 13. III.: Gestorben.	Milzschwellung, blutige Entzündung der Magenschleimhaut, punktförmige Blutungen der Dünndarmschleimhaut, punktförmige Blutungen und feine diphtherische Beläge auf der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms, blutige Entzündung der Dünndarmlymphknoten.	Rotlaufstäbchen u. Bac. suipestifer (Kunzen-dorf).

No.	Behandlung	Geschichte	Zerlegungsbefund	Bakteriolog.- Befund
654	5. III. 1914: 0,25 g Virus, sensibilisiert im Verhält- nis 1:200.	10. III.: Vermin- derte Freßlust. 12. III.: Offen- sichtlich krank.	Punktförmige Blutungen unter dem Lungenfell, Milzschwel- lung, blutige Entzündung der Magenschleimhaut, punktför- mige Blutungen in der Dünn- darmschleimhaut, punktför- mige und größere Blutungen und einzelne linsengroße, kon- zentrisch geschichtete Ge- schwüre in der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms, blutige Entzündung der Dick- darmlymphknoten.	Rotlaufstäb- chen u. Bac. suipestifer (Kunzen- dorf).
658	5. III. 1914: 0,25 g Virus, sensibilisiert im Verhält- nis 1:200.	10. III.: Blau- rote Ohren, un- sicherer Gang, Schwäche, ver- minderte Freß- lust. 11. III.: Gestor- ben.	Herdförmige Entzündung in den Spitzenlappen der Lunge, blu- tige Entzündung der Lungen- lymphknoten, Milzschwellung, vereinzelte punktförmige Blu- tungen in der Dünnarm- schleimhaut, blutige und di- phtherische Entzündung der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms.	Keine spezi- fischen Er- reger.

Der Versuch zeigt, daß ein so hochvirulentes Virus, wie das angewandte, nach viertägigem Einwirken der tausendfachen Menge Immunserums auch in Mengen von 0,025 noch imstande ist, eine stürmisch verlaufende Schweinepest zu erzeugen; die Krankheit führte in 8—14 Tagen zum Tode. Beachtenswert ist, daß das einzige überlebende Tier eines von denen ist, welche die geringste Menge (0,025 g) Virus mit dem weitesten Sensibilisierungsverhältnis (1:1000) erhalten haben.

2. Versuch.

Im zweiten Versuch wurde deshalb von kleineren Mengen Virusbrei ausgegangen und nur das Sensibilisierungsverhältnis 1:1000 gewählt.

Um die angewandte Virusmenge auf ein Minimum herabzusetzen, erhielt ein Teil der Tiere nur perkutane Impfstiche mit einer in den Impfstoff getauchten feinen Impfnadel (Starmesser).

Am 11. April 1914 erhielten die Ferkel

688 0,00025 g Virus

689 0,0025 „ „

690 0,025 „ „

sensibilisiert im Verhältnis 1:1000. Ferkel 678, 679 und 680 erhielten 1 bzw. 3, bzw. 5 perkutane Impfstiche (Sensibilisierungsverhältnis 1:1000).

Auch diese Tiere erkrankten fast alle schon etwa acht Tage nach der Impfung. Eines (689), mit 0,0025 g Virus behandelt, starb schon am 20., 3 weitere Tiere am 27. (680), 29. (690) und 30. April (678).

Alle Tiere zeigten bei der Zerlegung Veränderungen akuter Schweinepest. Durch die bakteriologische Untersuchung wurden Bakterien von den Eigenschaften des Bac. suipestifer (Kunzendorf) ermittelt.

Das Ferkel 679 hielt sich längere Zeit bei ziemlich guter Freßlust, blieb aber in der Entwicklung völlig zurück und starb am 22. Mai.

Bei der Zerlegung zeigten sich in der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms zahlreiche grauweiße, flache, beertartige Erhebungen, sowie eine größere Anzahl flacher, linsen- bis pfennigstückgroßer, scharf umgrenzter, wie mit dem Locheisen geschlagener Vertiefungen. Die Schleimhaut wick sonst in ihrem Aussehen an den betreffenden Stellen nicht von dem der gesunden Teile ab. Die beertartigen Erhebungen erweckten den Eindruck von Schleimhautschwielen, welche nach der Abstoßung diphtherischer Auflagerungen entstanden waren, während die Vertiefungen als abgeheilte Geschwüre erschienen.

Ferkel 688, welches zugleich mit den anderen schwer erkrankt war, erholte sich wieder und hielt sich bei ziemlich guter Freßlust, blieb aber in der Entwicklung zurück, wenngleich bei weitem nicht so wie Ferkel 679. Es wurde am 22. Mai getötet.

Bei der Zerlegung fand sich eine außerordentlich starke Schwellung und wäßrige Durchtränkung der Dickdarmschleimhaut, sowie eine große Anzahl etwa zehnpfennigstückgroßer Geschwüre, welche mit überhaselnußgroßen, fest aufsitzenden Kotpföpfchen bedeckt waren.

Uebersichtstabelle II.

No.	Behandlung	Geschichte	Zerlegungsbefund	Bakteriolog. Befund
688	11. IV. 1914: 0.00025 g Virus, sensibilisiert i. Verhältnis 1 zu 1000.	17.IV.: Erscheint krank. 23. IV.: Blaue Ohren. 28. IV.: Hat sich wieder erholt und hält sich bei ziemlich guter Freßlust, bleibt jedoch in der Entwicklung zurück und wird am 22. V. getötet.	Starke Milzschwellung, starke Schwellung der Dickdarmschleimhaut, Blind- u. Grimmdarm zahlreiche Geschwüre mit haselnußgroßen und größeren Kotpfropfen.	Keine spezifischen Erreger.
689	11. IV. 1914: 0.0025 g Virus, sensibilisiert i. Verhältnis 1 zu 1000.	17.IV.: Erscheint krank. 18. IV.: Blaue Flecken an den Ohren. 20. IV.: Gestorben.	Milzschwellung, punktförmige Blutungen in den Nieren, blutige Entzündung der Magenschleimhaut, einzelne punktförmige Blutungen in der Dünndarmschleimhaut, blutig-diphtherische Entzündung der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms, blutige Entzündung der Dickdarmlymphknoten.	Bac. supestifer (Kunzen-dorf).
690	11. IV. 1914: 0,025 g Virus, sensibilisiert i. Verhältnis 1 zu 1000.	17.IV.: Erscheint krank. 28. IV.: Blaue Ohren. 29. IV.: Gestorben.	Milzschwellung, zahllose, zehnpfennigstückgroße, flach-erhabene Schorfe in der Schleimhaut des ganzen Dickdarms.	Bac. supestifer (Kunzen-dorf).
678	11. IV. 1914: Ein perkutaner Impfstich, Impfnadel eingetaucht in eine 400-fache Verdünnung von sensibilisiertem Virus (sensibilisiert im Verhältnis 1 : 1000).	17.IV.: Erscheint krank. 26. IV.: Sehr abgemagert und zurückgeblieben. 30. IV.: Gestorben.	Entzündung des rechten Herzlappens der Lunge, Milzschwellung, punktförmige Blutungen in der Niere, diphtherische Entzündung und wenig erhabene, geschichtete, knopfartige Boutons in der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms, blutige Entzündung der Darmlymphknoten.	

No.	Behandlung	Geschichte	Zerlegungsbefund	Bakteriolog. Befund
679	11. IV. 1914: 3 perkutane Impfstiche, sonst wie oben.	14. IV.: Zwei Impfstellen, stechnadelkopfgroß, leicht gerötet. 18. IV.: Leichte Schwellung der Unterhaut an der Impfstelle, erscheint krank. 12. V.: Das Tier hat sich bei ziemlich gutem Appetit gehalten, ist aber völlig zurückgeblieben. 22. V.: Gestorben.	Magenschleimhaut schmutziggaurot, Dünndarmschleimhaut etwas geschwollen und gerötet, Dickdarmschleimhaut dunkelgrau, im Blindarm schwartenähnliche Auflagerungen, im Grimmdarm locheisenähnliche Vertiefungen.	Keine spezifischen Erreger.
680	11. IV. 1914: 5 perkutane Impfstiche, sonst wie oben.	18. IV.: Blaurote Flecken an den Ohrändern, erscheint krank. 27. IV.: Gestorben.	Milzschwellung, punktförmige Blutungen in den Nieren, blutig-diphtherische Entzündung der Magenschleimhaut, punktförmige Blutungen und erbsengroße, wenig erhabene, zum Teil konzentrisch geschichtete Schorfe in der Schleimhaut des Blind- und Grimmdarms.	Keine spezifischen Erreger.

Dieser Versuch zeigt, daß so unendlich kleine Mengen sensibilisierten Virus, wie sie durch einen perkutanen Impfstich einverleibt werden, imstande sind, Schweinepest zu erzeugen. Immerhin war der Verlauf in diesem Versuch schon ein wesentlich langsamerer als in dem ersten; wiederum waren die am längsten überlebenden Tiere solche, welche nur sehr kleine Mengen Impfstoff erhalten hatten. Die Veränderungen bei Ferkel 679 lassen deutlich erkennen, daß der Organismus des Tieres lange einen teilweise erfolgreichen Kampf gegen das Virus geführt hat.

3. Versuch.

Unter entsprechender Verwendung dieser Erfahrungen wurde am 12. Juni ein 3. Versuch an 2 Ferkeln angesetzt.

Ferkel 737 erhielt 0,00025 g sensibilisierten Virusbrei. Es trat keinerlei Reaktion auf, das Tier wurde am 23. Juni in den Schweinepeststall gesetzt, wo es Ende Juli erkrankte und am 3. August starb.

Bei der Zerlegung erwiesen sich Lunge und Herz ohne Veränderungen, Milz leicht geschwollen und blaurot gefärbt, Nieren geschwollen, Rindenschicht erweitert, fettig degeneriert. Leber geschwollen, Fundteil der Magenschleimhaut gerötet, stellenweise hellbraun gefärbt. Im Dickdarm befindet sich eine große Anzahl Geschwüre. Darmlymphknoten stark geschwollen und dunkelrot.

Ferkel 738 erhielt 0,000025 g sensibilisierten Virusbrei und wurde am 23. Juni in den Schweinepeststall gesetzt. Dort blieb es zunächst gesund; am 11. Juli morgens wurde es, ohne vorher Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, tot im Stall aufgefunden.

Bei dem Ferkel war die Hautoberfläche an den Ohren, am Kopf, Rücken und Bauch hochgradig gerötet. Lungenlymphknoten waren schwach geschwollen und gerötet; Milz braunrot, geschwollen, Pulpa weich. Leber braunrot, geschwollen, Nieren braunrot. Die Magenschleimhaut im Grunde und Pylorusteil hochgradig gerötet. Dünndarmschleimhaut leicht geschwollen und gefaltet, stellenweise schwache Rötung und punktförmige Blutungen. Die Dickdarmschleimhaut war leicht geschwollen. Im Grimmdarm bemerkte man stellenweise stecknadelkopfgroße Blutungen und einzelne verkäste Follikel. Mastdarmschleimhaut in der Umgebung des Afters hochgradig geschwollen und gerötet. Darmlymphknoten geschwollen und gerötet. Bakteriologischer Befund: Rotlaufbacillen.

Das Ergebnis dieses Versuches wich insofern von dem der übrigen ab, als beide Tiere die Impfung überstanden, ohne an Schweinepest zu erkranken. Die Prüfung auf Immunität fiel bei dem einen Tiere negativ aus, bei dem zweiten führte eine interkurrente Rotlauferkrankung zu einem vorzeitigen Abschluß des Versuches.

Zusammenfassung.

Die Versuche zeigen, daß es nicht mit Sicherheit gelingt, das Schweinepestvirus durch viertägige Digestion mit der tausendfachen Menge Immunserum avirulent zu machen, und daß Tiere, welche mit sensibilisiertem Virus behandelt sind und die Immunisierung überstanden haben, trotzdem einer natürlichen Schweinepestinfektion erliegen können.

Immerhin läßt der bei einem Ferkel (651) erzielte günstige Erfolg es nicht aussichtslos erscheinen, durch weitere Versuche dem Ziele der passiv-aktiven Immunisierung gegen Schweinepest näher zu kommen. Durch den Ausbruch des Krieges wurde die Fortführung solcher Versuche unmöglich gemacht.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium des Königlichen Serafimerlazarettes,
Stockholm (Vorstand: Privatdozent Dr. J. Tillgren).]

Ist die Ambozeptorquantität bei der v. Wassermannschen Reaktion gleichgültig?

Von **Otto Dymling.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. April 1916.)

Daß bei Hämolyseversuchen die verschiedenen Komponenten einander bis zu einem gewissen Grad zu ersetzen vermögen, wissen alle, obwohl es Schwierigkeiten macht, dies einerseits mit der Fermentnatur des Komplements, andererseits mit Ehrlichs Seitenkettentheorie zu vereinen.

Noguchi, der mit Blutkörperchen von Menschen und deren Immunambozeptor arbeitet, berichtet, daß die Aktivität des Ambozeptors sich nur dann voll entwickeln kann, wenn Komplement im Ueberschuß anwesend ist. Die Stärke des Ambozeptors, das heißt die kleinste, komplett lösende Menge, wird eine ganz andere, wenn 0,1 cem Komplement verwendet wird, als wenn man 0,05 cem benutzt. Binnen gewisser Grenzen ist das quantitative Verhältnis zwischen den absoluten Mengen von Komplement und Ambozeptor, die komplette Hämolyse bewirken, ein solches, daß eine Steigerung des einen Faktors, z. B. des Komplements, eine Verminderung des anderen, d. h. des Ambozeptors, erlaubt. Wenn viele Einheiten des Ambozeptors an der Reaktion teilnehmen, bedarf es nur einer kleinen Menge Komplement, um komplette Hämolyse hervorzubringen, z. B. kann derselbe Grad der Hämolyse mit einer Ambozeptoreinheit und einer Komplementeinheit oder mit 20 Ambozeptoreinheiten und 0,1 Komplementeinheit oder mit irgendwelcher entsprechenden Kombination der beiden Komponenten hervorgebracht werden. Wenn man zu einer Komplementeinheit mehr als eine Einheit Ambozeptor setzt, resultiert dies in einer Beschleunigung der Reaktion. Rodet und Fabre finden einen Zusammenhang zwischen Komplement und Ambozeptor wahrscheinlich, so daß Komplement in genügender Konzentration schwach sensibilisierte Blutkörperchen und

in schwächerer Konzentration stark sensibilisierte Blutkörperchen aufzulösen vermag. Die Reaktion ist jedoch nicht rein mathematisch regelmäßig. J. Kiss hat für Ochsenblutkörperchen und ihren Immunambozeptor gefunden, daß, wenn eine Einheit Komplement und eine Einheit Ambozeptor einander entsprechen, 2 Einheiten Ambozeptor nur 0,6 Einheiten Komplement und 10 Einheiten Ambozeptor nur 0,2 Einheiten Komplement bedürfen. In der Polemik gegen Morgenroth und Sachs, die mit Ziegenantihammelserum und Kaninchenantiochsen serum bei gesteigerten Ambozeptormengen verminderte Komplementmengen brauchten und beinahe minimale Werte schon mit 2,5 und 5 Ambozeptoreinheiten fanden, betont er, daß ihre in gewissen Fällen abweichenden Resultate in einer willkürlich gewählten Komplementeinheit ihre Erklärung finden. Erwähnt seien auch Sleeswijk, welcher behauptet: „Je stärker man das Blut sensibilisiert, desto weniger Komplement braucht man, und desto feiner wird die Titration“, und Scheller, der das Komplement als Katalysator betrachtet und es darum für ausgemacht hält, daß mit größeren Ambozeptormengen belastete Blutkörperchen weniger Komplement brauchen. Diesen Beobachtungen gegenüber steht die von Thomsen, der zwar eine bedeutende Differenz in der Reaktionsgeschwindigkeit, aber dieselben endgültigen Resultate findet, selbst wenn er Multiplen von der austitrierten Ambozeptoreinheit nimmt. Leschly ist derselben Ansicht. Aus seinen Versuchstabellen geht zwar hervor, daß unter der Ambozeptoreinheitengrenze die Multiplen von Ambozeptor die Hämolyse fast ebenso steigern, wie die Multiplen von Komplement. Die beistehende Tabelle ist aus Leschlys Studier over Komplement genommen.

Tabelle 1.

Ambo- zeptor in ccm	Hämolyse mit Komplementmenge in ccm														
	0,2	0,16	0,13	0,10	0,08	0,06	0,05	0,04	0,03	0,025	0,02	0,016	0,013	0,01	0,008
0,05	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	70	45
0,03	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	70	45
0,02	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	65	45
0,01	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	95	85	65	45
0,007	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	85	70	40
0,005	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	70	40
0,003	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	70	40
0,002	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	70	40
0,001	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	75	55	35
0,0007	100	100	98	98	95	90	95	90	90	90	90	70	55	35	20
0,0005	100	95	90	90	80	80	75	70	70	60	55	40	25	20	10
0,0003	95	80	65	60	55	50	45	45	40	40	35	25	12	6	4
0,0002	85	70	55	50	40	45	30	30	25	20	20	6	4	0	0
0,0001	70	55	40	30	25	20	16	14	10	12	8	0	0	.	.
0,00007	60	45	35	25	20	14	14	10	2	4	2
0,00005	55	40	30	20	16	12	10	4	0	0	0
0,00003	55	35	25	16	12	9	4	0	0	0	0

Thomsen bereitet seine Blutkörperchenaufschwemmung so, daß der Bodensatz des gewaschenen, zentrifugierten Blutes, welcher Bodensatz 25000000 Blutkörperchen pro 1 cm zählt, zu einer 5-proz. Suspension ver-

dünnt wird, also bedeutend dicker als v. Wassermanns, und liest die endgültigen Resultate am folgenden Tag nach Madsens Skala ab. Leschly benutzt dieselbe Technik und wahrscheinlich dieselbe dicke Blutsuspension, was man aus den feinen Zahlendifferenzen seiner Versuche vermuten muß. In einer späteren Arbeit (diese Zeitschr., Bd. 24, Heft 5) gibt Leschly zu: „daß die Hämolyse mit einer Ambozeptoreinheit bisweilen etwas geringer als mit $1\frac{1}{2}$ —20 Einheiten ist“. J. O. Wakelin-Baratt hat für Normalambozeptoren und deren homologes Komplement eine ähnliche Konstanz im Ersatzvermögen angegeben: „So kann z. B. dieselbe Menge der Blutkörperchensuspension, die durch eine sehr kleine Menge Ambozeptors und eine relativ große Quantität Komplements eben vollständig hämolysiert wurde, auch gelöst werden, wenn die Komplementmenge allmählich vermindert und der Ambozeptor zur selben Zeit verstärkt wird, aber diese Verminderung des Komplements und zunehmende Konzentration des Ambozeptors kann nur bis zu einem gewissen Grade geschehen“ (Ambozeptoren und Komplement von Mensch und Kaninchen, rote Blutkörperchen von Ziege). Was die Konstanten der Reaktion zwischen Immunambozeptor und heterologem Komplement betrifft, so scheint mir eine gewisse Ähnlichkeit zwischen diesen und den Kurven des oben erwähnten Verfassers zu existieren, zu einem sicheren Nachweis hiervon bedarf es aber genauerer Untersuchungen und mathematischer Berechnungen an größerem Material.

Mit der Hämolyse als Indikator verwendet die Originalmethode der v. Wassermannschen Reaktion absichtlich einen Ueberschuß der hämolytischen Komponenten. So viel Arbeit die Wissenschaft auf diesem Gebiet auch geleistet hat, so ist zwar im Beginn die Aufmerksamkeit sehr auf Komplement- und Antigenreduktion gerichtet gewesen. Jedoch Sachs und Altmann behaupten: „... daß erfahrungsgemäß in ziemlich weiten Grenzen ein Ambozeptor- und Komplementüberschuß für das Zustandekommen des v. Wassermannschen Phänomens belanglos ist.“ Mit Ausnahme von Noguchi, der die Reaktion mit einer Einheit Ambozeptor am empfindlichsten findet, und Thomsen, der, seinen Untersuchungen nach, 1—3 Einheiten Ambozeptor verwendet, findet man die verschiedensten Angaben über die Ambozeptormenge, oft ohne genügende Motivierung, warum der Verfasser gerade die Dose benutzt, und ohne genauere Angaben, wie er seine Einheit bekommen hat. Schlossberger findet keine störenden Einflüsse von 4—6 Einheiten, er empfiehlt sogar einen Ueberschuß von Ambozeptor, fordert dagegen reduzierte Komplementmenge. Margarete Stern weiß zwar, daß größere Ambozeptordosen die Positivität einer schwachen Reaktion verschwinden lassen können, da sie aber mit 7—8 Ex-

trakten arbeitet, ist die Gefahr, ihrer Ansicht nach, doch gering. Eine relative Hemmung beruht nach ihr auf Ungenauigkeit der Austitration von Ambozeptor und Komplement! Sormani arbeitet mit einer hochsensibilisierten 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung, er benutzt zum Sensibilisieren 5—15 Einheiten grob austitrierten Ambozeptor. Wenn er die Komplementmenge mit besonderer Genauigkeit bestimmt, kann er selbst 25 Einheiten brauchen, ohne irgendwelche Abstufung der Reaktion zu erhalten. (Nach Sensibilisieren wird die noch viel Ambozeptor enthaltende Flüssigkeit weggegossen.) In Fällen latenter oder behandelter Lues kann sich jedoch die positive Reaktion in eine negative verwandeln, nie erhält er aber nach der Originalmethode positive und nach seiner Methode negative Reaktion. Die Untersuchungen von Eisenberg und Nitsch zeigen eine Abstufung einer kräftigen positiven Reaktion beim Ansteigenlassen der Ambozeptormenge; eine schwach positive Reaktion kann sogar zu Negativität gebracht werden. Gleichgültig ist wieder, ob es zu einer Sensibilisierung der Blutkörperchen kommt oder nicht. Bauer gibt auch an, daß ein Ambozeptorüberschuß eine positive Reaktion verdecken kann.

Bei der Ausführung der v. Wassermannschen Reaktion am hiesigen Laboratorium ist es in mehrfacher Hinsicht deutlich gewesen, daß die Ambozeptormenge nicht gleichgültig ist. Eine allgemeine Erfahrung bei der Komplementtitration ist die, daß, wenn der Ambozeptor zu knapp abgemessen ist, keine vollständige Hämolyse selbst bei den negativen Kontrollen erreicht wird, trotzdem Komplement in genügender Menge anwesend war.

Seit einigen Jahren ist unsere Technik folgende. Nach genauer Bestimmung der geringsten komplett lösenden Ambozeptordosis („der Einheit“) gegen 0,05 ccm Komplement (frisches Meerschweinchenserum) und 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutsuspension, frisch zubereitet ($\frac{3}{4}$ Stunde bei 37°), eventuell auch der Eigenhemmung der Extrakte, wird das Komplement genau gegen die zu verwendenden Extrakt Dosen mit 3 Einheiten Ambozeptor austitriert. Im Hauptversuch nehmen wir von Serum 0,1 ccm, das mit der im Vorversuch ermittelten Komplementmenge und von Ambozeptor 3 Einheiten sowie 0,5 ccm einer 5-proz. Blutkörperchensuspension alles auf ein Totalvolumen von 2,5 ccm verdünnt wird.

Folgende Versuchstabellen zeigen, daß beim einfachen Hämolyseversuch nicht nur die Reaktionsgeschwindigkeit, sondern auch die am folgenden Tag abgelesenen Resultate von den Ambozeptormengen beeinflußt

Tabelle II.

a

	Serie I										Serie II									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hämolyse	+	0	+	+	0
nach 10 Min.	++	++	++	0	++	++	++	++	+	0
" 30 "	+++	+++	+++	+++	+	+	0	.	.	.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	.	.
" 60 "	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+
Ambozeptor 1:300										Ambozeptor 1:150										

	Serie III										Am folgenden Tag war die Hämolyse						Komplement ccm
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Serie I		Serie II		Serie III		
Hämolyse	++	++	+	0							1	100	100	100	100	100	0,045
nach 10 Min.			total	++	++	++	+	.	.	.	2	90	90	90	90	90	0,040
" 30 "	.	.		++	++	++	++	0	.	.	3	60	60	90	90	90	0,035
" 60 "	total	++	+	.	.	4	50	50	90	90	90	0,030
							+	+	+	0	5	50	50	90	90	90	0,025
						Ambozeptor 1:60	+	+	+		6	50	50	90	90	90	0,020
							+	+	+		7	35	35	70	70	70	0,015
											8	20	20	35	35	70	0,010
											9	6	6	6	6	20	0,005
											10	2	2	2	2	2	0,000

b

	Serie I										Serie II									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hämolyse	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
nach 10 Min.	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	.	.	.
" 30 "	.	total	+	+	+	+	+	0	total	+	+	+	+	+	0
" 60 "	.	.	total	+	+	+	+	+	total	+	+	+	+	0
	Ambozeptor 1:300										Ambozeptor 1:150									

	Serie III										Am folgenden Tag war die Hämolysc			Komplement ccm
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
											Serie I	Serie II	Serie III	
Hämolysc											100	100	100	0,045
nach 10 Min.	.	total	+++	+++	+++	++	0	.	.	.	100	100	100	0,040
" 30 "	total	++	+	.	.	100	100	100	0,035
" 60 "	total	+++	+++	0	.	80	100	100	0,030
											80	100	100	0,025
											80	100	100	0,020
											70	70	100	0,015
											50	60	80	0,010
											6	10	14	0,005
											2	2	2	0,000

c

	Serie I										Serie II									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hämolysc nach 10 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	.	.	.	+++	+++	+++	++	++	++	+	0	.	.
" 30 "	.	total	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	total	+++	+++	+++	++	++	+
" 60 "	total	+++	+++	+++	0	total	+++	+++	+++	.

Ambozeptor 1:1200

Ambozeptor 1:600

	Serie III										Am folgenden Tag war die Hämolysc			Komplement ccm
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Serie I	Serie II	Serie III	
Hämolysc nach 10 Min.	.	.	.	total	+++	+++	++	0	.	.	100	100	100	0,045
" 30 "	total	+++	0	.	100	100	100	0,040
" 60 "	total	++	0	100	100	100	0,035
							100	100	100	0,030
							100	100	100	0,025
											100	100	100	0,020
											90	100	100	0,015
											70	90	100	0,010
											25	45	80	0,005
											0	0	0	0,000

Ambozeptor 1:240

werden. In 3 Serien Röhren habe ich Komplementmengen von 0,045 bis 0,005 ccm abgemessen und bei jeder Serie das 3-, 6- und 15-fache der nach Titration gewonnenen Ambozeptoreinheit, 0,5 ccm der oben erwähnten Blutsuspension genommen; Versuchsvolumen 2,5 ccm. Ablesung erfolgt nach 10, 30 und 60 Minuten bei 37°. Die Röhren werden an kühlem Orte bis zum nächsten Tag stehen gelassen wonach die Ablesung nach der erwähnten Madsenschen Skala bei Tageslicht vorgenommen wird.

Wir erhalten den Ambozeptor durch mehrmalige intravenöse Injektionen mit steigenden Mengen der gewaschenen Hammelblutkörperchen auf Kaninchen. Um den anaphylaktischen Shock zu umgehen, geben wir mehrere Stunden vor der Hauptinjektion eine winzige Menge ($< 0,1$ ccm) Blutkörperchenaufschwemmung intravenös und verteilen die größeren Dosen auf mehrere mit einigen Stunden-Intervallen desselben Tages.

Aus den Tabellen (p. 198/99) geht hervor:

- 1) Die Hämolyse geht mit größeren Ambozeptormengen schneller vor sich.
- 2) Der Komplementtiter wird mit größeren Ambozeptormengen niedriger.
- 3) Auch die endgültigen Resultate zeigen mit größeren Ambozeptormengen eine weiter gegangene Hämolyse als mit kleineren.

Dies möchte nicht ohne Einfluß auf die oft auftretenden relativen Hemmungen bei v. Wassermanns Reaktion sein. Einige solche erhielt ich auch leicht durch Anwendung einer kleineren Serummenge als der größten angewandten von den nach Thomsen austitrierten positiven Sera. Die Vermutung zeigte sich auch richtig. Wir teilen hier die Tabelle III (s. p. 201) mit.

Aus den Tabellen geht mit aller Deutlichkeit hervor, daß ein Ueberschuß von Ambozeptor leicht dahin führen kann, daß ein echtes Versagen der Reaktion eintritt. Mehrere Autoren haben, wie oben erwähnt, dies bemerkt. Thomsen und auch Leschly können keine Erklärung für die Tatsache angeben, warum ihre Resultate z. B. von denen Noguchis abweichen. Wir wollen hier nur auf den Umstand aufmerksam machen, daß die Thomsen'sche Blutkörperchensuspension bedeutend dicker als die unsrige und als die Noguchis ist.

Auch in Leschlys Tabellen sehen wir ein treppenförmiges Absteigen der Hämolyse, wenn man seine niedrigsten Komplementmengen, die ja eben in der mit Komplementreduktion angestellten v. Wassermannschen Re-

Tabelle III.

	a			b			c				Kom- plement ccm
	Serie			Serie			Serie				
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	IV	
1	80	100	100	55	80	100	80	90	100	100	0,045
2	80	90	100	50	60	100	80	90	90	90	0,040
3	70	90	100	45	55	80	80	80	90	90	0,035
4	60	70	90	35	45	70	70	80	90	90	0,030
5	45	70	90	30	40	70	40	55	80	90	0,025
6	25	55	70	25	25	40	35	55	60	90	0,020
7	10	25	60	25	25	30	20	30	50	70	0,015
8	6	14	30	16	25	30	6	14	16	20	0,010
9	2	2	2	14	14	14	4	4	4	4	0,005
10	2	2	2	6	6	6	4	4	4	4	0,000
0,1 ccm Alkoholex- trakt + 0,05 Serum. In den Serien resp. 3, 6 und 15 Einheiten. Verdünnung resp. 1:1200, 1:600 und 1:240.				0,25 ccm Aetherex- trakt Lesser + 0,05 Serum. In den Serien resp. 3, 6 und 15 Einheiten. Ver- dünnung resp. 1 zu 1500, 1:750 und 1:300.			0,25 ccm Aetherextrakt Lesser + 0,01 Serum. In den Serien resp. 1,5, 3,6 und 15 Einheiten. Verdünnung resp. 1:4000, 1:2000, 1: 1000 und 1:400.				

Nach Boas wird negative Reaktion gerechnet, wenn die Hämolyse 60—100 beträgt.

aktion vorkommen, betrachtet. Wenn dies nicht so deutlich ist wie in Noguchis und in den unsrigen Tabellen, so weisen wir auf die oben erwähnte, verschiedene Dichte der Blutsuspension hin.

Zusammenfassung.

Die Wirkung von Multiplen der Ambozeptoreinheit tritt in einfachen Hämolyseversuchen mit reduzierten Komplementmengen als eine Steigerung der Hämolyse auch in den definitiven Resultaten hervor (5-proz. Blutkörperchensuspension).

Bei den sogenannten relativen Hemmungen bei v. Wassermanns Reaktion, bei denen das Komplement zu einem großen Teil gebunden ist und ein kleiner Teil für die Hämolyse übrigbleibt, wirken die Multiplen der Ambozeptoreinheit auf entsprechende Weise.

Dies dürfte von praktischer Bedeutung sein, da die Reaktion erst bei einem gewissen Grade von Hemmung als positiv gerechnet wird.

Literaturverzeichnis.

- Altmann und Sachs, zit. Eisenberg und Nitsch.
Bauer, zit. Eisenberg und Nitsch.
Boas, Wassermanns Reaktion, Kopenhagen 1910.
Eisenberg und Nitsch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4.
Kiss, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3.
Leschly, Studier over komplement, Kopenhagen 1915.
Noguchi, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7.
— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9.
— Serum diagnosis of syphilis, London und Philadelphia 1912.
Morgenroth und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, p. 817.
Rodet et Fabre, Compt. rend. et Mém. de la Soc. de Biol. de Paris,
1911, 70.
Scheller, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, Beiheft.
Schlossberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19.
Sleeswijk, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5.
Sormani, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11.
— Arch. f. Dermatol. und Syphilis, Bd. 118.
— Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 37.
Stern, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 5 und 22.
Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7.
Wakelin-Baratt, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18.

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen (Direktor:
Dr. med. Th. Madsen).]

Versuche über Komplement. IV.

Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration.

Von **W. Leschly**,
Assistent am Institute.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Dezember 1915.)

In der Literatur liegen etliche Untersuchungen vor über den Einfluß der Reaktion teils auf die Hämolyse als ein Ganzes, teils auf die einzelnen Faktoren. In den meisten Fällen handelt es sich aber nur um Untersuchungen über die Wirkung, welche der Zusatz von Säure und Alkali (besonders HCl und NaOH) samt von sauren und alkalischen Salzen ausübt. Die wahre Reaktion, welche, wie bekannt, durch die Wasserstoffionenkonzentration angegeben wird, ist nur von Michaelis und Skwirsky¹⁾ erwähnt.

Sämtliche an der Hämolyse beteiligten Faktoren werden sowohl von Säure wie auch von Alkali in stärkeren Konzentrationen zerstört, das Komplement am stärksten [Ehrlich und Morgenroth²⁾ u. a.]. Die Resistenz der Blutkörperchen Säure und Alkali gegenüber ist verschieden bei den einzelnen Blutarten, so werden nach Rondoni³⁾ Hammelblutkörperchen leichter als Rinderblutkörperchen von Säure zerstört, vertragen dagegen besser Alkali.

Ueber die Wirkung schwächerer Säure- und Alkalikonzentrationen variieren die Angaben recht sehr, in bezug auf diese Eingriffe muß man die Wirkung auf die einzelnen Faktoren von derjenigen auf die verschiedenen Phasen der Hämolyse für sich genauer unterscheiden. Sowohl das Komplement als der Ambozeptor wird stärker von Säure als von Alkali angegriffen [Abramow⁴⁾, Moruzzi⁵⁾, Rondoni, l. c.], die Ambozeptoren

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 4, 1910, p. 357.

2) Berlin. klin. Wochenschr., 1899, p. 481.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, p. 575.

4) Ebenda Bd. 8, 1910, p. 145.

5) Biochem. Zeitschr., Bd. 27, 1910, p. 498, und Compt. rend. Soc. Biol., T. 68, 1910, p. 226.

weniger als die Komplemente. Alkali bewirkt eine reversible Inaktivierung der letzteren [v. Liebermann¹⁾, Hecker²⁾, Noguchi³⁾ u. a.], die Säureinaktivierung ist dagegen nach Hecker nicht reversibel, den Untersuchungen Noguchis und Moruzzis (l. c.) zufolge jedoch so innerhalb gewisser Grenzen. Die Wirkung auf die Komplementfraktionen ist von Liefmann und Cohn⁴⁾ studiert worden, später auch von Guggenheimer⁵⁾. Die ersten fanden, das HCl wirke auf Globulin stärker als auf Albumin, Phosphorsäure umgekehrt, NaOH mit beinahe gleicher Stärke, Na₂CO₃ am stärksten auf die Albumine.

Die Bindung der Ambozeptoren geschieht [Moruzzi (l. c.), Michaelis und Skwirsky (l. c.), Rondoni (l. c.)] in sauren Medien recht gut, doch mag [v. Liebermann und v. Fenyvessy⁶⁾] gebundener Ambozeptor in stärkeren Säurekonzentrationen abgespalten werden [vgl. v. Eisler⁷⁾, K. Meyer⁸⁾ und Rondoni (l. c.)]. Nach Rondoni wird Ambozeptor jedoch erst von solchen Säurekonzentrationen losgerissen, welche selbst hämolysieren, dagegen von Alkali leichter, die Bindung sei deshalb auch schlechter in alkalischen Medien. Moruzzis Angaben in betreff der Alkalien lauten etwas verschieden. Komplementmittelstück wird in sauren Flüssigkeiten gut gebunden (Michaelis und Skwirsky), in alkalischen ist die Frage nicht untersucht worden. Auf die Hämolysen als ein Ganzes ist der Einfluß verschiedener Reaktion oft untersucht worden. Kleinere Säuremengen können [v. Liebermann (l. c.), Sachs und Altmann⁹⁾, Rondoni (l. c.) m. m.] die Hämolysengeschwindigkeit vergrößern, seltener (Rondoni) das Endergebnis vermehren. Die von NaOH bedingte Hemmung soll, die von HCl hervorgerufene dagegen nicht, durch Verdünnung mit Kochsalzlösung aufgehoben werden [Moruzzi (l. c.)]. Unter den Untersuchungen über Salzhemmungen mag diejenige von Marks¹⁰⁾ erwähnt werden, er stellt jedoch die von saurem phosphorsaurem Natron hervorgerufene Hemmung mit der von höheren NaCl-Konzentrationen zusammen. In betreff der Einflusses von CO₂ siehe Sawtschenko¹¹⁾ und Lagrange¹²⁾.

Die wahre Reaktion durch Titrierung zu bestimmen, ist, wie bekannt,

- 1) Arch. f. Hyg., Bd. 62, 1907, p. 277.
- 2) Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt, 1907, p. 39.
- 3) Biochem. Zeitschr., Bd. 6, 1907, p. 172.
- 4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 6, 1910, p. 562.
- 5) Ebenda Bd. 11, 1911, p. 393.
- 6) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 47, 1908, p. 274.
- 7) Ebenda Bd. 46, 1908, p. 357.
- 8) Ebenda Bd. 46, 1908, p. 337.
- 9) Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.
- 10) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, 1902, p. 86.
- 11) Ann. Pasteur, 1912, p. 1032.
- 12) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 23, H. 1.

unmöglich, weil diese Lösungen „Puffer“ enthalten, nach Henderson¹⁾ im wesentlichen Karbonate, Phosphate und Eiweißstoffe. Die wahre Reaktion läßt sich dagegen elektrometrisch oder auch kolorimetrisch nach der von S. P. L. Sørensen²⁾ ausgearbeiteten Methode bestimmen.

Ein anderes Verfahren erwähnten Michaelis und Skwirsky (l. c.), indem sie den Versuchsflüssigkeiten Stoffe, welche als „Puffer“ wirken können und eine bestimmte bekannte Reaktion haben, zusetzten; die Reaktion der Versuchsflüssigkeiten wird dann annäherungsweise dieselbe wie die des gebrauchten Puffers sein. Als Puffer verwendeten sie Mischungen von primärem und sekundärem Natriumphosphat in $n/7$ Lösungen. 1 ccm $n/7$ Mischung soll in Volumen 5 ccm mit 0,1 ccm Serum hinreichend sein, 0,1 ccm dagegen nicht. Am besten wäre, eine recht große Puffermenge zu verwenden. Wegen der von Phosphaten ausgeübten Hemmung mußten sie sich jedoch mit einer recht geringen Puffermenge begnügen. Die Hauptergebnisse waren, daß sich kein bestimmtes Optimum finde, wohl aber ein optimales Gebiet bei ca. $0,6 \times 10^{-7}$, daß Hämolyse bei einer Wasserstoffionenkonzentration $3,8 \times 10^{-6}$ total gehindert sei, und daß die von den sauren Mischungen ausgeübte Hemmung antireaktiv sei, weil sie bei Neutralisierung verschwand. In sauren Flüssigkeiten wurde sowohl Ambozeptor als auch Mittelstück gebunden, folglich mußte das Endstück zu wirken gehindert sein. Nach Aristowsky³⁾ soll das Optimum für die verschiedenen Komplemente und bei Benutzung verschiedener Lösungsobjekte variieren.

Eine Nachprüfung der Michaelis-Skwirskyschen Resultate auch bei Verwendung einer anderen Technik, sowie eine Untersuchung der Frage, bei welcher H⁺-Ionenkonzentration die Hämolyse in alkalischen Flüssigkeiten aufhört, schien mir nicht ohne Interesse. Leider sind die Untersuchungen aus verschiedenen äußeren Ursachen in der gedachten Ausdehnung nicht ausgeführt worden. Wie verschieden der Einfluß der Reaktion auf verschiedene Hämolytika ist, geht aus den Untersuchungen Walbums⁴⁾ hervor, der jedoch die Komplementhämolyse nicht untersucht hat.

Bei Verwendung von Phosphatmischungen nach Michaelis und Skwirsky habe ich ganz ähnliche Ergebnisse wie diese Verfasser erhalten. Weil jedoch die absolute Puffermenge eine bedeutende Rolle spielt, wenn man die Reaktion aus dem Puffer berechnen will (Versuch 1), habe ich in meinen Ver-

1) Journ. of Physiol., Vol. 21, 1908, p. 427. Ref. Biochem. Centralbl., Bd. 7, No. 1308.

2) Biochem. Zeitschr., Bd. 21, 1909, p. 131.

3) Russky Wratsch. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910, p. 749.

4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1915, p. 565.

suchen vorgezogen, die p_H der Flüssigkeiten zu messen. Diese Unsicherheit bei der Berechnung der p_H der Flüssigkeiten nach der p_H der Puffer wird auch in Michaelis und Skwirskys eigenen Versuchen über die Lage der Optimums gut demonstriert. Eine gewisse, jedoch geringere Bedeutung als das Komplement haben in dieser Beziehung auch die Blutkörperchen (Versuch 2).

Versuch 1. Phosphatlösungen nach Michaelis und Skwirsky.

Meerschweinchen-serum	5-fach sens. 5-proz. Hammelblutaufschwemmung	0,9-proz. NaCl.	Phosphatmischung		Hämolyse nach 3 St. bei 18°			
			prim.	sek.	Menge Phosphatmisch.			
					1,0	0,7	0,5	0,3
0,2	4,0	ad	9,0	1,0	100	100	100	100
"	"	50,0	9,5	0,5	70	90	"	"
"	"		9,75	0,25	0 ¹⁾	30	50	"
"	"		9,9	0,1	0	0 ²⁾	20	"
"	"		10,0	0	0	0	0 ³⁾	70

p_H elektrometrisch bestimmt: 1) 5,40, 2) 5,41, 3) 5,40.

Versuch 2.

50 ccm Mischung mit 1 ccm Meerschweinchenserum und 1 ccm n_{10} HCl: $p_H = 4,13$

Dieselbe Mischung + 10 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung: $p_H = 5,39$

50 ccm Mischung mit 1 ccm Meerschweinchenserum und 20 ccm Phosphatmischung (0,1 sekundär + 9,9 primär): $p_H = 5,13$

Dieselbe Mischung + 10 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung: $p_H = 5,35$

Die Mischungen mit 0,9-proz. Kochsalzlösung auf 50 ccm gebracht.

In der Technik Michaelis und Skwirskys ist auch ein anderer Punkt nicht ohne Bedeutung, daß nämlich die verwendeten Phosphatlösungen nicht isotonisch sind [vgl. Kiss¹⁾, v. Eisler²⁾]. Einige wenige eigene Versuche mit n_7 primärem und sekundärem Phosphat, mit resp. NaCl und HCl auf dieselbe Reaktion gebracht, zeigten auch, daß die

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 3, 1909, p. 558.

2) Ebenda Bd. 2, 1909, p. 159.

Hämolyse in den Gläsern mit primärem Phosphat am schnellsten verlief.

Meine Versuche sind daher wesentlich mit Verwendung einer mit 0,9-proz. NaCl-Lösung isotonischen Lösung sekundäres Natriumphosphat (Präparat: Kahlbaum, Zu Enzymstudien nach Sørensen) vorgenommen. Als Puffer wirkt diese Lösung (S. P. L. Sørensen) nicht innerhalb des ganzen untersuchten Gebietes; wenn ich dennoch dieses Salz auch in Mischungen, welche außerhalb des Wirkungsgebietes der Phosphate liegen, hinzugesetzt habe, so geschah es, weil verschiedene Salze eine besondere Salzwirkung, abgesehen von der H⁺-Ionenkonzentration, ausüben. Ganz dasselbe gilt auch für die Versuche mit Natriumazetat. Änderungen der H⁺-Ionenkonzentration sind durch Zusatz von NaOH oder HCl (n_1 -Lösungen mit 0,9-proz. NaCl-Lösung verdünnt) hervorgerufen. Selbst recht große Veränderungen der Salzkonzentration spielen in betreff der äußersten Grenzen keine Rolle, dagegen wohl in betreff des Optimums (vgl. unter anderem Michaelis und Skwirsky, l. c.). Die untersuchten Flüssigkeiten sind nicht kohlensäurefrei; um die Kohlensäuremenge möglichst klein zu machen, sind alle Salz-, Säure- und Alkalilösungen CO₂-frei mit gut ausgekochtem, destilliertem Wasser hergestellt, und mit Natronkalk von der Luft abgesperrt, aufbewahrt. Die Blutkörperchen sind mit CO₂-freier Kochsalzlösung gewaschen und aufgeschwemmt. Die Mischungen sind in Röhrchen, die nur wenig mehr als das gesamte Volumen der Versuchsflüssigkeiten faßten, vorgenommen und gut zugeschlossen gehalten. In allen Mischungen, welche Puffer enthalten, spielt daher der CO₂-Gehalt keine Rolle. Die Versuche sind mit wenigen Ausnahmen bei ca. 18°, Messungen und Versuche bei derselben Temperatur vorgenommen, und in der Berechnung die für 18° geltenden Konstanten verwendet. In den bei 37° ausgeführten Versuchen sind die für diese Temperatur geltenden Konstanten benutzt. Die komplexe Hämolyse verläuft bei 18° langsamer, was sich gewissermaßen durch Verwendung größerer Ambozeptormengen kompensieren läßt. Die Messungen wurden meist elektrometrisch vorgenommen (Technik siehe S. P. L. Sørensen, l. c.) mit Wasserstoffdurchleitung,

in einigen Fällen nach der Hasselbalchschen¹⁾ Schüttelmethode. Wasserstoffdurchleitung ist fortgesetzt worden, bis 3 Messungen mit wenigstens 20 Minuten Intervall dieselben Werte gaben. Doppelmessungen derselben Flüssigkeiten haben nie größere Abweichungen als 5 im zweiten Dezimal des p_H , meist kleinere gegeben.

Versuch 3. Folgende Mischungen werden hergestellt. In allen Röhrchen 2 ccm sekundäres Natriumphosphat, dann die angeführten Säure- oder Alkalimengen, Kochsalzlösung bis 7 ccm, 1 ccm $\frac{1}{6}$ Meerschweinchen-serum, die Röhrchen verschlossen, der Inhalt gemischt und dann 2 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung, 15-fach sensibilisiert, zugesetzt. Versuchstemperatur 16,6—17,8°.

$n/_{10}$ HCl ccm	p_H gemessen	Hämolyse nach			
		$\frac{1}{2}$ Stunde	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden
2,5	5,37	0	0	0	0
2,4	5,49	0	0	10	10
2,3	5,63	0	0	40	40
2,2	5,91	0	0	100	100
2,0	6,19	0	40	"	"
1,6	6,31	0	60	"	"
1,3	6,63	0	90	"	"
1,0	6,92	100	100	"	"
0,5	—	"	"	"	"
0,2	7,81	"	"	"	"
$n/_{10}$ NaOH					
0	8,26	"	"	"	"
0,05	—	"	"	"	"
0,07	8,51	"	"	"	"
0,1	8,70	0	60	"	"
0,13	9,11	0	0	60	70
0,16	9,31	0	0	10	20
0,2	9,55	0	0	0	0

Hämolyse durch Zentrifugierung herausgenommener Proben. Wasserstoffdurchleitung in mehreren Proben nur vorgenommen, bis 2 Messungen mit $\frac{1}{4}$ Stunde Intervall nicht über 1 Millivolt Differenz gaben. — bedeutet, daß keine Messung vorgenommen.

In diesem Versuche hat sich von p_H 5,91 bis p_H 8,7 totale Hämolyse ergeben, außerhalb dieses Gebietes nimmt die Hämolyse nach beiden Seiten ab, um bei p_H 5,37 und

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 49, 1913, p. 451.

9,55 total aufzuhören; wie es der Versuch beweist, ist die Hämolyse zu Ende gegangen. In bezug auf die Gebiete, wo die Hämolyse komplett gehemmt ist, habe ich eine Reihe Versuche, die in den beigefügten Tabellen aufgestellt sind, unternommen.

Total- volumen ccm	5-proz. 15-f. sensibilisierte Hammelblut- aufschwem- mung ccm	Komplement ccm	n/1 Phosphat			pH·	Hämolyse nach 3 Stunden 18°
			Menge ccm	sekundär	primär		
50	10	1,0	20	0,25	9,75	5,40	0
"	"	"	14	0,1	9,8	5,41	0
"	"	"	10	0	10	5,40	0
"	"	"	20	0,1	9,9	5,35	0
"	"	"	"	0,1	9,9	5,39	0
"	"	"	"	0	10	5,54	20
"	"	"	"	0,5	9,5	5,60	50
"	"	"	"	"	"	5,64	50
"	"	"	"	"	"	5,72	80
"	"	"	n/875 Phosphat				
"	"	"	20	0	10	5,36	0
"	"	"	"	0	"	5,39	0
"	"	"	"	0	"	5,41	0
"	"	"	10	0	"	5,48	10
"	"	"	10	0	"	5,54	20
"	"	"	20	1	9	5,64	50
"	"	"	10	1	9	5,74	100

Total- volumen ccm	5-proz. 5-f. sensibilisierte Hammelblut- aufschwem- mung ccm	Kom- plement ccm	n/875 sekund. Phosphat. ccm	n/10 HCl ccm	pH·	Hämolyse n. 3 Std. 18°
10	2	0,2	2	2,4	5,35	0
"	2	"	2	2,5	5,39	0
"	2	"	2	2,5	5,31	0
"	2	"	2	2,0	5,62	40
"	2	"	2	2,1	5,63	45
"	2	"	2	2,0	5,62	45
"	2	"	2	2,0	5,65	35
50	10	1,0	0	1,1	5,25	0
"	"	"	0	1,0	5,39	0
"	"	"	0	1,0	5,41	0
"	"	"	0	0,8	5,61	40
"	"	"	0	0,8	5,63	60
"	"	"	0	0,6	6,06	100

Total- volumen ccm	5-proz. 5-f. sensibilisierte Hammelblut- aufschwem- mung ccm	Kom- plement ccm	$n/_{6,35}$ Natrium- azetat ccm	$n/_{10}$ HCl ccm	pH.	Hämolyse n. 4 Std. 18°
50	10	1,0	20	6	5,19	0
"	"	"	"	6	5,19	0
"	"	"	"	5	5,30	0
"	"	"	"	5	5,30	0
"	"	"	"	4,8	5,36	0
"	"	"	"	4,6	5,40	0
"	"	"	"	4,0	5,44	0
"	"	"	"	4,0	5,45	0
"	"	"	"	4,2	5,49	10
"	"	"	"	3,8	5,55	20
"	"	"	10	2,0	5,55	20
"	"	"	"	2,0	5,54	30
"	"	"	20	3,8	"	"
"	"	"	"	3,6	"	"
"	"	"	"	3,6	5,52	20
"	"	"	"	3,4	5,61	40
"	"	"	"	2,0	5,64	50
"	"	"	"	"	5,64	45
"	"	"	"	"	5,70	70
"	"	"	"	1,8	5,71	80
				$n/_{7}$ Essig- säure		
"	"	"	"	4,0	5,39	0
"	"	"	"	2,0	5,58	50

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß die Hämolyse, selbst bei Ueberschuß an Komplement und Ambozeptor, bei einer H⁺-Ionenkonzentration größer als pH· 5,45 immer komplett gehemmt ist, was den Angaben Michaelis' und Skwirskys sehr gut entspricht. Die Versuche stimmen gegenseitig sehr gut überein und zeigen, daß die Hemmung der Hämolyse nicht der Wirkung der Phosphate als solche, sondern der H⁺-Ionenkonzentration zu verdanken ist, weil derselbe Verlauf mit Natriumazetatlösung und ohne Puffer eintritt. Totale Hämolyse hat sich erst bei einem pH· 5,7 ergeben.

In mehreren Versuchen ist es ganz unmöglich gewesen, zu bestimmen, wo die komplexe Hämolyse aufhörte, weil die Säurehämolyse sich zu weit hinauf erstreckte. Die Ursache dazu, daß Hämolyse in saurem Medien nicht eintritt, ist, wie beschrieben, wesentlich die, daß das Endstück nicht wirken kann, die Ambozeptoren werden dagegen gut gebunden und

bei größerer Ambozeptormenge auch das Mittelstück. Auch Schweineserum ist in einzelnen Versuchen bei derselben H-Ionenkonzentration unfähig gewesen, Hämolyse hervorzurufen.

Versuch 4. In 10 ccm Totalvolumen mit 2 ccm 5-proz. 20-fach sensibilisierter Hammelblutaufschwemmung, 2 ccm Phosphatmischung (nach Michaelis und Skwirsky) und die angegebenen Mengen frisches Schweineserum.

Schweineserum ccm	Phosphatmischung									
	primär	1	1	1	1	1	2	4	8	16
	sekundär	16	8	4	2	1	1	1	1	1
1,6		100	100	100	100	100	100	100	90	40
0,8		"	"	"	"	90	90	50	20	0 ¹⁾
0,56		90	90	90	90	80	70	20	0 ²⁾	0
0,4		70	70	70	70	70	50	0 ³⁾	0	0

pH· gemessen: 1) 5,81, 2) 5,98, 3) 6,26.

In betreff alkalischer Flüssigkeiten sind meine Resultate bei weitem unzuverlässiger, weil keins der von mir benutzten Salze hier als Puffer wirken kann; die Versuche können daher nur ungefähre Anhaltspunkte angeben.

Ammoniakverbindungen und Natriumborat, die ich versucht habe, haben sich mir nicht bewährt. Die Messungen werden ferner dadurch erschwert, daß sich nach längerer oder kürzerer Zeit, während der Wasserstoffdurchleitung ein Fallen des pH· ergeben hat; dieses Fallen ist am langsamsten in Mischungen mit Phosphaten, geschwinder in Mischungen mit Azetat oder ohne fremde Salze eingetreten. Dieses Fallen ergibt sich auch, wenn die Blutkörperchen vor der Wasserstoffdurchleitung entfernt werden. Werden die Blutkörperchen nicht entfernt, so ergibt sich während der Durchleitung Hämolyse in solchen Mischungen, wo diese beim Hinstellen nicht erscheint. In Phosphatmischungen bleiben die Messungen in der Regel etwa 2 Stunden konstant.

Versuch 5. Im Totalvolumen 50 ccm, 20 ccm n_{6,5} Natriumazetat, 1 ccm Meerschweinchenserum, 0,7 ccm n₁₀ NaOH und 10 ccm 15-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung.

Wasserstoffdurchleitung beginnt 1⁴⁵ p. m.

Kl.	π	Kl.	π
2 ⁰⁵	0,8549	3 ⁰⁰	0,8474
2 ²⁰	0,8539	3 ³⁰	0,8466
2 ³⁵	0,8535	4 ⁰⁰	0,8455
2 ⁴⁵	0,8502		

Versuch 6. Technik wie oben, nur sind die Blutkörperchen vor der Wasserstoffdurchleitung wegzentrifugiert und 1 ccm n₁₀ NaOH zugesetzt worden.

Wasserstoffdurchleitung beginnt 12⁴⁰ p. m.

Kl.	π	Kl.	π
2 ⁰⁰	0,9024	4 ⁰⁰	0,8598
2 ⁴⁵	0,8970	4 ³⁰	0,8572
3 ⁰⁵	0,8894	5 ⁰⁰	0,8539
3 ³⁰	0,8727	5 ³⁰	0,8525

Versuch 7. In 50 ccm Totalvolumen 10 ccm n/_{4,5} sekundäres Phosphat, 1 ccm Meerschweinchenserum, 1 ccm n/₁₀ NaOH und 10 ccm 15-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Zwei Proben.

Wasserstoffdurchleitung beginnt 9³⁰ a. m.

Kl.	π No. 1	π No. 2
10 ⁰⁰ a. m.	0,8939	0,8918
10 ³⁰ „ „	0,8945	0,8952
11 ⁰⁰ „ „	„	„
12 ⁰⁰ „ „	„	„
12 ³⁰ p. m.	„	„
2 ³⁰ „ „	0,8903	
4 ⁰⁰ „ „	0,8853	
4 ³⁰ „ „	0,8839	
12 ⁰⁰ „ „	0,8525	

Stehen die Mischungen ohne Wasserstoffdurchleitung, so ändert sich die Reaktion nicht. Dagegen dauert es bisweilen einige Zeit (1/2 bis 1 Stunde), ehe sich Gleichgewicht ergeben hat. Kolorimetrische Bestimmung des p_H hat mit Phenolphthalein und Boraten gute Uebereinstimmung mit den elektrometrisch bestimmten Werten ergeben, was darauf deutet, daß die elektrometrisch erhaltenen Werte leidlich korrekt sind.

Versuch 8. Im Totalvolumen 50 ccm mit 1 ccm Meerschweinchenserum, 10 ccm 15-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und

n/ _{4,5} Azetat ccm	n/ ₁₀ NaOH ccm	p_H	
		kolometr.	elektrometr.
20	0,8	9,7	9,69
10	0,5	9,7	9,65
„	0,3	9,5	9,52
„	0,2	9,1	9,09
0	1,0	10	9,98
0	0,6	9,4	9,43

Wie aus den zitierten Versuchen und den nachfolgenden Tabellen hervorgeht, ist die Hämolyse bei p_H größer als 9,3 immer komplett gehemmt. Die Ergebnisse sind untereinander mehr abweichend gewesen, am konstantesten bei Verwendung von Phosphatlösungen.

Total- volumen ccm	n/6% sek. Phosphat ccm	n/10 NaOH ccm	pH- elektrometr.	Hämolyse nach 4 Std. 18°
50	10	0,6	9,05	40
10	2	0,12	9,09	20
50	10	0,7	9,12	20
"	"	0,8	9,22	6
"	"	1,0	9,65	0
"	"	0,9	9,5	0
"	"	0,9	9,52	0
"	"	1,0	9,54	0
"	"	"	9,67	0
"	"	"	9,71	0
"	"	"	9,82	0
"	"	"	9,87	0
"	"	"	9,9	0
"	"	1,2	10,1	0
"	"	1,0	9,8	0
10	2	0,16	9,11	20
"	2	0,2	9,5	0
"	2	"	9,55	0
"	2	"	9,55	0
"	2	"	9,65	0
"	2	0,25	9,76	0
"	2	0,28	9,84	0

Total- volumen ccm	n/6% Azetat ccm	n/10 NaOH ccm	pH- elektrometr.	Hämolyse nach 4 Std. 18°
50	10	0,2	9,1	60
"	10	0,3	9,5	0
"	20	0,8	9,69	0
"	20	0,5	9,72	0
"	10	0,5	9,7	0

Total- volumen ccm	n/10 NaOH ccm	pH- elektrometr.	Hämolyse n. 4 Std. 18°
50	0,4	8,86	100
"	0,4	9,2	20
"	0,5	9,43	0
"	0,6	9,68	0
"	0,6	9,81	0
"	0,7	9,98	0

Daß sich Hämolyse in alkalischen Flüssigkeiten nicht ergibt, ist gewiß keinem einzelnen Momente, wie es in sauren Flüssigkeiten der Fall ist, teils aber einer zerstörenden, teils einer alle Phasen der Hämolyse hemmenden Wirkung zu verdanken.

Versuch 9. 5 Mischungen werden hergestellt. No. 1—4 werden zentrifugiert, die Niederschläge in je 10 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Abzüge neutralisiert und auf 50 ccm gebracht.

No.	Total- volumen ccm	5-proz. 15-f. sensibilisierte Hammelblut- aufschwem- mung ccm	Ambo- zeptor ccm	Kom- plement ccm	n/10 NaOH ccm	Hämolyse n. 2 Std. 18°
1	50	10	0,05	1,0	1,0	0
2	"	"	"	"	0,8	0
3	"	"	"	"	0,6	0
4	"	"	"	"	0,5	0
5	"	"	"	"	0,4	part.

Das Komplement in der Kälte mit Hammelblut behandelt. M und E in $\frac{1}{10}$ Verdünnung mit CO_2 gewonnen, M $\frac{1}{10}$ gelöst. Titer (0,5 ccm Hammelblut) $\bar{a}a$ E + M = 0,03 ccm, Ambozeptortiter = 0,0002 ccm.

Hämolyse:	E	M
0,1 ccm 10	0,1 ccm 10	
0,05 " 0	0,05 " 0	

10-proz. Hammel- blutauf- schwem- ung ccm	Kom- plement ccm	0,9-proz. NaCl ccm	Abguß- menge ccm	worin ursprüng- lich Am- bozeptor ccm	Abguß No.			
					1	2	3	4
0,25	0,1	0,15	2,0	0,002	100	100	100	100
"	"	1,15	1,0	0,001	"	"	"	100
"	"	1,45	0,7	0,0007	"	"	"	90
"	"	1,65	0,5	0,0005	"	"	90	70
"	"	1,85	0,3	0,0003	90	85	70	50

Total- volumen ccm	Nieder- schlag No.	Meerschwein- chenserum		Eigener Abguß			Meer- schwein- chen-E 0,05 ccm
		0,05 ccm	0	2 ccm	1 ccm	0,5 ccm	
2,5	1	100	0	90	20	10	25
"	2	"	0	20	10	0	20
"	3	"	0	50	10	0	10
"	4	"	0	90	30	0	10

Total- volumen ccm	10-f. sens. 5-proz. Hammel- blutauf- schwem. ccm	1 ccm Abguß No.	Meerschwein- chen-E		Meerschwein- chen-M		Abguß allein
			0,1 ccm	0,05 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	
2,5	0,5	1	25	20	100	70	0
"	"	2	30	25	"	80	0
"	"	3	45	30	"	90	10
"	"	4	60	50	"	100	30

Resultat¹⁾. Ambozeptor wird in alkalischen Flüssigkeiten schlecht gebunden, die Blutkörperchen sind nicht persensibilisiert worden. Die

1) Der Versuch wurde mehrmals mit ähnlichen Erfolg wiederholt.

Wirkung der alkalischen Reaktion ist nicht nur antireaktiv, weil die Niederschläge nicht von den neutralisierten Abgüssen komplett hämolysiert werden. Sowohl Komplement (besonders M) als auch die Blutkörperchen werden geschädigt.

Bei alkalischer Reaktion werden also erstens alle Komponenten geschädigt, zweitens wird Ambozeptor schlecht gebunden, Mittelstück nicht in nachweisbarer Menge. Ob das Endstück bei dieser Reaktion wirken kann, läßt sich daher nicht entscheiden.

Die für die Hämolysen optimale H^+ -Ionenkonzentration habe ich versucht, auf zweierlei Weise zu bestimmen, teils durch Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit bei Komplementüberschuß, teils durch Bestimmung der Endwirkung kleinerer Komplementmengen. Für die erste Methode habe ich dieselbe Technik wie in den vorhergehenden Versuchen benutzt. Aus Versuch 3 hat sich schon ergeben, daß totale Hämolysen bei den verschiedenen H^+ -Ionenkonzentrationen nicht gleichzeitig erschienen ist, innerhalb eines Gebietes von pH 6,02—8,51 jedoch beinahe gleichzeitig, ein Moment früher bei pH 8,26 als in den anderen Röhrchen. In der Regel habe ich diesen Verlauf gefunden, d. h. innerhalb eines gewissen Gebietes ist es nicht möglich, irgendeinen zuverlässigen Unterschied an Geschwindigkeit wahrzunehmen. Dieses Gebiet ist um so breiter, je langsamer die Hämolysen verläuft.

Versuch 10. Totalvolumen 10 ccm, darin 2 ccm $n/_{8,5}$ sekundäres Phosphat, 0,2 ccm Meerschweinchenserum und 2 ccm 15-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Versuchstemperatur 18,6°.

$n/_{10}$ HCl	Komplette Hämolysen nach	pH	$n/_{100}$ NaOH	Komplette Hämolysen nach	pH
ccm			ccm		
2,0	45'	.	2,0	—	.
1,6	30'	.	1,5	—	.
1,3	22'	.	1,0	18'	.
1,0	20'	.	0,5	15'	.
0,7	18'	.	0,2	10 $\frac{1}{2}$ '	.
0,5	15'	.	0,15	10 $\frac{1}{2}$ '	8,48
0,3	13 $\frac{1}{2}$ '	.	0,1	10'	.
0,2	12 $\frac{1}{2}$ '	.	0,05	10'	.
0,1	10'	7,85	0,02	9 $\frac{3}{4}$ '	.
0,07	10'	.			
0,05	10'	.			
0,03	10'	.			
0,02	10'	.			
0,01	10'	.			
0	9 $\frac{1}{2}$ '	8,29			

In diesem Versuche findet sich ein nicht deutlich bestimmtes Optimum bei p_H 8,29 und ein optimales Gebiet von p_H 7,85—8,48. In den meisten Versuchen hat sich das optimale Gebiet zwischen p_H 7,6—7,8 und p_H 8,4—8,6 gefunden, in den Versuchen, wo die Hämolyse am schnellsten eingetreten, außerdem ein Optimum bei p_H 8,1—8,3. In den langsamer verlaufenden Versuchen ist der Unterschied verwischter gewesen und die Grenze besonders gegen die saure Seite verrückt, in einem Falle war kein Unterschied der Geschwindigkeit zwischen p_H 7,09 und p_H 8,56. Dieses Resultat, das von den Angaben Michaelis und Swirskys (l. c.), nach welchen das Optimum bei p_H ca. 7,2 liegt, recht erheblich abweicht, ist von dem Phosphatanion nicht bedingt. In Versuchen mit Natriumazetat (4 ccm für 10 ccm Totalvolumen), habe ich ganz entsprechende Werte erhalten, nämlich Optimalgebiet zwischen 7,61—8,42, 7,82—8,51 und 7,76—8,46. In einem Versuche, wo alle Kochsalzlösung durch Azetatlösung ersetzt worden war, lag das Optimalgebiet zwischen p_H 7,98 und 8,43. In einigen Versuchen ohne Puffer war das Optimalgebiet zwischen p_H 7,60—8,17 und zwischen p_H 7,82—8,55.

Bei Versuchen nach der anderen Methode habe ich ein Optimum überhaupt nicht nachweisen können weder mit Phosphat- oder mit Azetatpuffer, weder bei 18° oder bei 37°. Innerhalb eines gewissen Gebietes, dessen Breite von der Komplementmenge abhängig ist, ist die Hämolyse beinahe dieselbe gewesen.

Versuch 11. In 10 ccm Totalvolumen 2 ccm $n/_{6,6}$ sekundäres Phosphat, 1 ccm $1/_{8}$ Meerschweinchenserum, 2 ccm 15-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und die angegebene Säure oder Alkalimengen.

$n/_{10}$ NaOH	p_H	Hämolyse nach 4 Std. 18°
0,16 ccm	9,44	0
0,13 „	9,30	0
0,1 „	8,90	20
0,05 „	8,52	62
0 „	8,27	60
$n/_{10}$ HCl	p_H	Hämolyse nach 4 Std. 18°
0,1 ccm	7,94	60
0,2 „	7,59	60
0,5 „	7,29	65
1,0 „	6,90	60

$n_{/10}$ HCl	pH	Hämolyse nach 4 Std. 18°
1,5 ccm	6,53	60
2,0 "	6,12	65
2,2 "	5,88	55
2,3 "	5,74	45
2,4 "	5,49	8

Versuch 12. Technik wie im vorigen, nur sind 10-fach sensibilisiertes Blut und Temperatur 37° verwendet.

pH	Hämolyse nach 2 Std. 37° und 18 Std. 0°	pH	Hämolyse nach 2 Std. 37° und 18 Std. 0°
5,29	0	7,27	70
5,48	14	7,48	55
5,64	38	7,66	60
6,06	60	8,23	70
6,42	70	8,76	10
6,83	70		

Versuch 13. In 20 ccm Totalvolumen 4 ccm $n_{/10}$ Azetat, 1 ccm $\frac{1}{4}$ Meerschweinchenserum, 4 ccm 15-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und die angegebenen Säure- oder Alkalimengen.

$n_{/10}$ NaOH	pH	Hämolyse nach 4 Std. 17,6°
0,1 ccm		80
0,08 "	8,52	90
0,06 "		90
0,04 "		90
0,02 "		90
0,01 "		90
$n_{/10}$ HCl	pH	Hämolyse nach 4 Std. 17,6°
0 ccm	7,90	90
0,01 "		90
0,02 "		90
0,05 "	7,56	90
0,1 "	7,12	90
0,2 "	6,42	90
0,3 "	6,17	60
0,4 "	5,94	35
0,6 "	5,71	0
0,8 "	5,52	0

Während sich also im Endresultate kein Optimum nachweisen läßt, gab die Beobachtung des Verlaufes dasselbe Resultat wie früher, d. h. die Hämolyse ist am schnellsten bei pH etwa 8 verlaufen. Daß dieser Erfolg den als Puffer verwendeten Salzen nicht zu verdanken ist, geht aus dem folgenden Versuche hervor, wo kein Puffer zugesetzt wurde. Die Art des Zusatzes ist dagegen nicht ohne Bedeutung für die absolute Hämolysegeschwindigkeit und das Endergebnis, Phosphate hemmen z. B. recht bedeutend. Nur die Höhe, nicht die Gestalt der Kurven sind verschieden; denselben

Verlauf, habe ich auch mit einer Mischung von gleichen Teilen Borat und sekundärem Phosphat und mit inaktiviertem Hammelserum als Puffer gefunden.

Versuch 14.. Im Totalvolumen 10 ccm 2 ccm 5-fach sensibilisierte Hammelblutaufschwemmung und die angegebenen Komplement-, Säure- und Alkalimengen. 2 Std. 37°, 18 Std. 0°.

n/100 NaOH	0,04 Komplement	0,08 Komplement
1,0 ccm	0	0
0,5 "	0	8
0,2 "	0	50
0,1 "	8	65
n/100 HCl	0,04 Komplement	0,08 Komplement
0 ccm	25	70
0,1 "	22	65
0,2 "	25	65
0,3 "	25	70
0,5 "	25	70
0,7 "	20	65
1,0 "	14	70
1,5 "	2	8
2,0 "	8	10
2,5 "	ca. 30	ca. 35 } Säure- hämolyse
3,0 "	ca. 60	

Zusammenfassung.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß mit dem gebrauchten hämolytischen Systeme

die Hämolyse immer bei einer Reaktion saurer als $p_H \cdot 5,45$ und mehr alkalisch als $p_H \cdot 9,3$ komplett verhindert ist, sei es, daß Puffer hinzugesetzt sind oder nicht;

die Hämolyse bei einer Reaktion $p_H \cdot$ ca. 8,2 am schnellsten verläuft, innerhalb eines Gebietes von $p_H \cdot$ ca. 7,8 bis 8,4 jedoch mit etwa derselben Geschwindigkeit;

das hämolytische Endresultat innerhalb eines recht weiten Gebietes von der Reaktion unabhängig ist;

die Hemmung der Hämolyse bei alkalischer Reaktion, abgesehen von einer Zerstörung aller Faktoren, durch eine Hemmung der Bindung des Ambozeptors und des Komplementmittelstückes bedingt ist,

und daß daher unter gewöhnlichen Versuchsbedingungen, wenn nur das Endresultat verwertet wird, der Einfluß der Reaktion vernachlässigt sein kann.

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen (Direktor:
Dr. med. Th. Madsen).]

Versuche über Konglutination.

Von W. Leschly,
Assistent am Institute.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Dezember 1915.)

Die Bezeichnung *Konglutination* ist zuerst von Bordet und Streng¹⁾, welche dabei eine ihres Erachtens besondere Seroreaktion angaben, eingeführt worden. Diese Reaktion gab sich dadurch zu erkennen, daß frisches Ochsen-serum, nicht aber inaktiviertes, Meerschweinchenblutkörperchen agglutinierte, sich also von der gewöhnlichen Agglutination unterschied, indem sie die Anwesenheit von Komplement erforderte.

Die Erscheinung an sich ist zuerst von Muir und Browning²⁾ beobachtet worden, welche sie als eine vom Komplemente hervorgerufene Agglutination erklärten. Später sind die Funktionen des Rinderserums in dieser Beziehung von Bordet³⁾, Bordet und Gay⁴⁾ studiert worden, welche die Frage aufnahmen wegen einer Erklärung von Ehrlich und Sachs⁵⁾ über die Hämolyse des Meerschweinchenblutes in einer Mischung von inaktiviertem Rinderserum und aktivem Pferdeserum und nachwiesen, daß der Zusammenhang ein anderer als der von Ehrlich und Sachs vermutete sein müsse, und daß die hämolysefördernde Fähigkeit des Rinderserums mit der Funktion, welche die Konglutination bewirkt, nicht identisch ist. Untersuchungen über diese Erscheinung wurden von Bordet und Streng (l. c.) fortgesetzt, welche die Resultate Bordet und Gays bestätigten und die inzwischen von Sachs und Bauer⁶⁾ erschienenen Angriffe zurückwiesen. Durch ihre Versuche wurde erläutert, daß Rinderserum nur dann Blutkörperchen agglutiniert, wenn diese sensibilisiert sind und Komplement gebunden haben, daß diese Funktion thermostabil sei und daß sie sich in dem durch Dialyse entstandenen Niederschlage ergebe

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 49, 1909, p. 260.

2) Journ. of Hyg., Vol. 6, 1906, p. 20.

3) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 10, 1896, p. 193.

4) Ebenda T. 20, 1906, p. 467.

5) Berl. klin. Wochenschr., 1902, p. 492.

6) Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt a. M., 1907, Heft 3.

(der hämolysefördernden Funktion entgegengesetzt). Nachher hat Streng¹⁾ nachgewiesen, daß diese Funktion „Konglutinin“ (Bordet und Streng) sich auch in den Seren anderer Wiederkäuer vorfindet, im Ziegenserum jedoch nicht. Späterhin hat Streng²⁾ die Anwesenheit des Konglutinins im Pferdeserum und möglicherweise zugleich in anderen Seren konstatiert; solche Konglutinine wirken jedoch langsamer, weshalb er vermutet, daß in verschiedenen Fällen, wo man in Normalseren langsam wirkende Agglutinine beschreibt, es sich um Konglutinine gehandelt hat. In Seren von Kälbern findet sich nach Streng³⁾ weniger Konglutinin als in Seren von erwachsenen Tieren. Nicht allein Blutkörperchen, sondern auch andere suspendierte Partikel werden von Rinderserum ausgefällt (präzipitiert), insofern sie Komplement gebunden. Streng⁴⁾ hat dies für verschiedene Bakterien nachgewiesen, Barikine⁴⁾ bei spezifischen Präzipitaten und Leukocyten, schließlich hat Gengou⁶⁾ wahrgenommen, daß Suspensionen von Mastix und Stärke unter den nämlichen Bedingungen niedergeschlagen werden. Vgl. Sachs⁶⁾. Gegen diese Theorie sind von verschiedenen Seiten und mit verschiedener Begründung etliche Angriffe gerichtet worden. Spät⁷⁾ vermutet, daß es sich in der Tat um eine gewöhnliche Agglutination, nicht aber um eine komplexe Reaktion handelt. Bail⁸⁾ will zwischen Konglutination und Agglutination keinen Unterschied anerkennen, weil er die letztere auch für komplex ansieht. In dieser Beziehung ist es von Interesse, daß H. R. Dean⁹⁾ ausfindig gemacht hat, daß die Agglutination durch an sich unwirksames Meerschweinchglobulin verstärkt wird [vgl. auch Bayer¹⁰⁾], und daher vermutet, daß die Agglutination zwei Bestandteile, einen spezifischen (Agglutinin) und einen nichtspezifischen (Globulin) enthält. Landsteiner und Roch¹¹⁾ äußern die Ansicht, Globulin habe überhaupt kraft seiner kolloidalen Zustandsform eine verstärkende resp. in Gang setzende Fähigkeit („Mittelstück“-Wirkung, Konglutination usw.). Indessen sind bis jetzt noch keine Einwendungen erhoben, welche mit Sicherheit die von Bordet und seinen Mitarbeitern gegebene Erklärung entkräften.

Seit ihrer Erscheinung ist diese Reaktion auf verschiedene Weise verwendet worden, wie um Komplement, besonders Pferdekompement nachzuweisen [Streng¹²⁾, Sleeswijk¹³⁾, Moreschi und Perussia¹⁴⁾

- 1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 2, 1909, p. 415.
- 2) Zieglers Beiträge, Bd. 51, 1911, p. 279.
- 3) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 50, 1909, p. 47.
- 4) Ebenda Bd. 56, 1911, p. 150.
- 5) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 725.
- 6) Ebenda Bd. 13, 1912, p. 374.
- 7) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 54, 1910, p. 361.
- 8) Ebenda Bd. 51, 1909, p. 170.
- 9) Proc. Roy. Soc., Ser. B, Vol. 84, 1911, p. 416.
- 10) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 15, 1912, p. 220.
- 11) Ebenda Bd. 14, 1912, p. 14.
- 12) Ebenda Bd. 2, 1909, p. 415.
- 13) Ebenda Bd. 2, 1909, p. 133.
- 14) Ebenda Bd. 11, 1911, p. 416.

und Perussia¹⁾). Ferner ist sie mit gutem Erfolg zur Differenzierung von Bakterien [Streng²⁾, Swift und Thro³⁾] und Pflanzeneiweiß [Saulli⁴⁾], wie auch als diagnostisches Hilfsmittel bei Dysenterie [Lucas, Fitzgerald und Shorer⁵⁾], bei Cerebrospinalmeningitis [Cohen⁶⁾] und bei Syphilis [Streng⁷⁾, Jacobäus⁸⁾, Karvonen⁹⁾, Hecht¹⁰⁾ u. a.] zur Verwendung gekommen.

Untersuchungen über die quantitativen Verhältnisse bei dieser Reaktion liegen in erheblicherem Umfange nicht vor, und dann wesentlich nur in betreff der Sensibilisatoren [Streng¹¹⁾]. Ueber das Konglutinin geben Bordet und Streng (l. c.) an, es sei hinreichend, wenn auch nur in geringer Menge anwesend; übrigens ist die Frage nicht näher erläutert worden, durchgehends wurde mit großem Ueberschuß gearbeitet. Die quantitativen Verhältnisse des Komplementes sind auch nicht näher geprüft worden; dagegen hat Streng¹¹⁾ mehrere Tierseren als Komplementquellen versucht, und gibt an, unter den untersuchten Seren wirke Meerschweinchen Serum am besten, Kaninchenserum am schlechtesten. Die Reaktion tritt, wie schon Muir und Browning (l. c.) zeigten, sowohl bei 37° als auch bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ein und wird, der Agglutination entgegengesetzt, durch leichtes Schütteln gefördert. Für die Syphilisdiagnostik hat Karvonen (l. c.) empfohlen, das Rinderserum erst eine Viertelstunde nach den Blutkörperchen hinzuzusetzen. Den Angaben Strengs gemäß hält sich das Konglutinin nur kurze Zeit, Karvonen (l. c.) dagegen gibt an, es lasse sich lange unverändert aufbewahren. Ihre Aufbewahrungsmethoden sind jedoch kaum identisch.

Im Zusammenhang mit den Untersuchungen, die ich über das Verhalten des Komplementes bei der Hämolyse ausgeführt hatte, nahm ich auch die Frage auf, wie dasselbe und dessen Fraktionen bei der Konglutination wirken, besonders in betreff quantitativer Verhältnisse zwischen Komplement und Konglutinin. Um mich möglichst der nämlichen Technik wie in den hämolytischen Versuchen zu bedienen, habe ich für die Konglutinationsversuche ausschließlich Hammelblutkörperchen und Ambozeptorsera von Kaninchen verwendet und die meisten

- 1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 287.
- 2) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 50, 1909, p. 47.
- 3) Arch. f. internat. Med., Bd. 7, 1911, p. 24. Ref. Zeitschr. f. Biochem., Bd. 11, No. 1514.
- 4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 1911, p. 359.
- 5) Journ. of the Amer. Med. Ass., Vol. 54, 1910, p. 441.
- 6) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 23, 1909, p. 273.
- 7) Zieglers Beiträge, Bd. 51, 1911, p. 279.
- 8) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, 1911, p. 445.
- 9) Arch. f. Dermat. u. Syph., Bd. 108, 1911, H. 3.
- 10) Berl. klin. Wochenschr., 1912, p. 58.
- 11) Centralb. f. Bakt., Orig., Bd. 50, 1909, p. 47.

Versuche bei 37° ausgeführt. Jedoch war es zuerst notwendig, die Bedeutung verschiedener Verhältnisse, deren Einfluß auf die Hämolyse früher erwähnt wurde, zu erörtern, d. h. die der Konzentration, der Menge des Ambozeptors, des Konglutinins und des Blutes, der Temperatur und des Schüttelns.

Was die Konzentration betrifft, so geht aus dem Versuche 1 hervor, daß die Konglutination ganz wie die Hämolyse schneller verläuft, je geringer das Gesamtvolumen sowohl bei Verwendung von Schweineserum als auch Meerschweinchenserum, und die zweite Hälfte des Versuches zeigt, daß die Reaktionsgeschwindigkeit in höherem Maße von der Konzentration des Komplementes als von der des Konglutinins abhängig ist. Eine genauere Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit, wie im Versuche 2, lehrt, daß diese bei gleicher Komplementkonzentration die gleiche ist.

Versuch 1. In allen Gläsern 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Inaktiviertes Rinderserum und frisches Schweineserum, beide mit Hammelblut behandelt.

I. Mit Schweineserum als Komplement und verschiedener Konglutininkonzentration (in allen Gläsern 0,2 ccm).

		Totale Konglutination in Volumen		
Schweineserum		1,25 ccm	2,5 ccm	5,0 ccm
0,02 ccm	nach	6'	8'	10'
0,01 "	"	7'	10'	20'
0,005 "	"	10'	20'	45'
0,002 "	"	25'	60'	120'

II. Mit Meerschweinchenserum als Komplement und gleicher Konglutininkonzentration (4-proz.).

		Totale Konglutination in Volumen		
Meerschw.-Serum		1,25 ccm	2,5 ccm	5,0 ccm
0,05 ccm	nach	7'	15'	15'
0,02 "	"	7'	15'	30'
0,01 "	"	15'	30'	30'
0,005 "	"	15'	30'	60'
0,002 "	"	30'	60'	60'
0,0005 "	"	30'	60'	120'

Kontrollen: 0,2 ccm Rinderserum allein nach 2 Stunden keine Konglutination.

Versuch 2. In allen Gläsern 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum, als Komplement Schweineserum, beide Sera mit Hammelblut vorbehandelt. Die Mischung von Komplement und Blutaufschwemmung wurde auf 36° erwärmt, dann erst das ebenfalls erwärmte Rinderserum hinzugesetzt.

Schweineserum	Konglutination in Volumen					
	1,25 ccm	2,5 ccm		5 ccm		
0,1 ccm	2' 20"	2' 49"	4' 45"	5' 21"	7' 20"	7' 11"
0,05 "	4' 05"	4' 10"	7' 28"	7' 42"	13'	12' 36"
0,025 "	6' 42"	7' 05"	10' 20"	10' 56"	17' 45"	18' 16"
am nächsten Tage						
0,05 ccm	4' 10"		8' 15"		15' 50"	
0,035 "	8' 45"		15' 35"		23' 30"	

Um die Bedeutung verschiedener Ambozeptormengen zu bestimmen, sind natürlich die Normalambozeptoren der Komplementseren und die des Rinderserums soweit als möglich zu entfernen. Um dies zu erreichen, habe ich Rinderserum in der Kälte (bei 0—1°) mit Hammelblutkörperchen behandelt, dann nach Zentrifugierung das Serum inaktiviert und es abermals sowohl bei 0° als auch bei 37° mit Hammelblut behandelt. Die als Komplemente verwendeten Sera sind nur in der Kälte, aber mehrmals behandelt worden. In solchem Falle wird durch eine Vermehrung der Ambozeptormenge auch die Reaktionsgeschwindigkeit vergrößert, jedoch ist die Vergrößerung gewöhnlich keine bedeutende¹⁾.

Versuch 3. Gesamtvolumen 1,25 ccm. In allen Gläsern 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,1 ccm inaktiviertes Rinderserum. Schweineserum als Komplement. Beide Seren mit Hammelblut vorbehandelt. Die Ambozeptoreinheit ist mit Meerschweinchenkomplement im Hämolyseversuch bestimmt.

Komplement	Konglutination mit				
	1	2	5	10	20 Ambozeptoreinheiten
0,007 ccm nach	25'	20'	10'	10'	9'
0,005 „ „	30'	25'	15'	15'	14'

Wie schon mehrmals [z. B. von Streng²⁾] festgestellt, ist eine gewisse Menge Ambozeptor erforderlich, die Einheit jedoch, die im Konglutinationsversuche bestimmt wurde, ist mit derjenigen, die im Hämolyseversuche gefunden wurde, nicht identisch, weicht jedoch in der Regel von der letzteren nicht viel ab.

Versuch 4. Gesamtvolumen 1,25 ccm. In allen Gläsern 0,25 ccm 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen, 0,1 ccm inaktiviertes Rinderserum und 0,05 ccm Meerschweinchenserum (Hämolysetiter 0,015 ccm, Konglutinationstiter 0,0012 ccm). Beide Sera sind mit Hammelblut vorbehandelt. Die hämolytische Einheit (1 ccm Aufschwemmung) des Ambozeptors ist 0,001 ccm. Die Mischungen mit den verschiedenen Ambozeptor-

1) Sehr große Ambozeptormengen können nicht gebraucht werden, weil solche allein Agglutination hervorrufen.

2) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 50, 1909, p. 47.

mengen stehen 1 Stunde bei 16° zur Bindung. Der Versuch bei 37° wird jede 3 Minuten, der Versuch bei 16° fortwährend geschüttelt.

Ambozeptor	Konglutination nach 1 Stunde	
	bei 37°	bei 16°
0,01 ccm	total	total
0,005 "	"	"
0,002 "	"	"
0,001 "	"	"
0,0005 "	"	"
0,0002 "	partiell	partiell

Wie oben erwähnt, hat Karvonen (l. c.) geäußert, daß die Reaktion am schnellsten verläuft, wenn das Rinderserum später als die anderen Komponenten hinzugesetzt wird. Meinen Versuchen nach (Versuch 5 und spätere) ist dies nur richtig, wenn die Blutkörperchen wie bei Karvonen's Technik nicht im voraus sensibilisiert sind; verwendet man jedoch sensibilisierte Blutkörperchen, so ist es für die Reaktionsgeschwindigkeit ohne Bedeutung, wann das Rinderserum hinzugesetzt wird.

Versuch 5. In allen Gläsern 0,25 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,1 ccm inaktiviertes Rinderserum. Ambozeptortiter (hämolysisch) für $\frac{1}{4}$ ccm Blut 0,0004 ccm¹⁾.

Ambo- zeptor	Meerschweinchenserum									
	0,02 ccm			0,01 ccm			0,005 ccm			
	Konglutination nach									
	15'	30'	60'	15'	30'	60'	15'	30'	60'	
0,01 ccm	+++	+++	+++	+	+++	+++	0	+	+	Alle Kom- ponenten zugleich
0,005 "	+++	+++	+++	++	+++	+++	0	++	++	
0,002 "	+++	+++	+++	++	+++	+++	0	+	+++	
0,001 "	0	+++	+++	0	++	+++	0	+	+++	
0,0005 "	0	++	++	0	0	++	0	0	+	
0,0002 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0,01 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	Rinderserum 20' nach den anderen Kom- ponenten
0,005 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	+++	
0,002 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
0,001 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
0,0005 "	++	++	++	++	++	++	+	++	++	
0,0002 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Alle Komponenten zugleich

Rinderserum 20' nach den anderen Komponenten

Kontrolle: 0,02 ccm Ambozeptor allein
 0,4 " Rinderserum allein
 0,2 " Meersch.-Serum allein } nach 2 Stunden
 keine Agglutination

Aus Versuch 6 geht hervor, daß die Blutmenge, die von einer gegebenen Menge Komplement und Konglutinin konglutiniert wird, keine unbegrenzte und die Reaktions-

1) In diesem und den folgenden Versuchen bedeutet +++ totale, ++ und + partielle und 0 gar keine Konglutination.

geschwindigkeit mit den kleineren Blutmengen größer ist. Aus Versuch 7 ergibt sich, daß die Reaktion schneller bei 37° als bei 16° verläuft und daß die Reaktionsgeschwindigkeit durch Schütteln vergrößert wird; das Endergebnis (der Komplementtiter) wird jedoch hierdurch nicht beeinflusst. Auch durch eine Vermehrung der Konglutininmengen läßt sich die Reaktionsgeschwindigkeit vergrößern, jedoch ist der Unterschied innerhalb gewisser Grenzen nur gering.

Versuch 6. Gesamtvolumen 1,25 ccm. Ueberall 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum und 0,1 ccm frisches Meerschweinchenserum. Das Hammelblut wird 1 Stunde bei 37° mit 5 Ambozeptoreinheiten sensibilisiert, zentrifugiert, gewaschen und eine 25-proz. Aufschwemmung hergestellt.

25-proz. Blut	Konglutination	
	bei 37°	bei 16°
	jede 5 Min. geschüttelt	kontinuierlich geschüttelt
0,2 ccm	nach 2 Std. partiell	nach 2 Std. partiell
0,1 "	" 30 Min. total	" 30 Min. total
0,05 "	" 10 " "	" 10 " "
0,02 "	" 5 " "	" 5 " "
0,01 "	" 5 " "	" 5 " "

Versuch 7. Gesamtvolumen 1,25 ccm. In allen Gläsern 0,25 ccm 50-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum. Pferde-, Meerschweinchen- und Schweineserum als Komplement.

Pferdeserum	37°				16°				16°		
	Jede 4 Min. geschüttelt				Kontinuierlich geschüttelt				Jede 4 Min. geschütt.		
	10'	15'	30'	60'	10'	15'	30'	60'	15'	30'	60'
0,02 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
0,007 "	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++
0,005 "	+	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	0	++	+++
0,003 "	0	+	++	++	0	+	++	++	0	0	+
Meerschw.-Serum											
0,02 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.
0,01 "	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	.	.	.
0,007 "	+	+++	+++	+++	+	++	+++	+++	.	.	.
0,005 "	0	+	++	+++	0	+	++	+++	.	.	.
0,003 "	0	0	+	+++	0	0	+	+++	.	.	.
Schweineserum											
0,02 ccm	++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	.	.	.
0,01 "	+	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	.	.	.
0,007 "	+	++	++	+++	+	+	+++	+++	.	.	.
0,005 "	0	+	+	+++	0	0	++	+++	.	.	.
0,003 "	0	0	0	+++	0	0	+	+++	.	.	.
0,002 "	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	.

Versuch 8. Gesamtvolumen 1,25 ccm. In allen Gläsern 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,05 ccm Schweineserum. Die Gläser werden nicht geschüttelt. Temperatur 37°.

Doppelversuch.

Inakt. Rinderserum	Konglutination nach	
0,2 ccm	3' 5"	2' 55"
0,1 „	3' 10"	3' 8"
0,05 „	3' 22"	3' 55"
0,025 „	7' 46"	8' 4"
0,01 „	10' 37"	10' 59"
0,005 „	nach 2 Std. nicht total	

Kontrolle: 0,2 ccm Rinderserum allein } keine Konglutination
 0,05 „ Schweineserum allein } nach 5 Std. bei 37°

Wenn man hiernach eine Technik wählen würde, welche schnellen Ausschlag gibt und gleichzeitig eine gewisse Vergleichung gestattet, ist es augenscheinlich, daß man weder ein allzu großes Volumen noch eine große Blutmenge wählen darf. Die Ambozeptormenge muß hinreichend sein, um sowohl nicht zu langsam zu wirken als auch um mit den verschiedenen Komplementseren, deren Ambozeptorverlangen ja von verschiedener Größe ist, wirken zu können, ferner muß ein Ambozeptorserum gewählt werden, das nicht zu viel Agglutinin enthält.

Für beinahe alle folgenden Versuche ist ein Serum verwendet, das in der 10–20-fachen Menge der gebrauchten Dose keine Agglutination hervorrief, und die Technik ist die folgende gewesen: Gesamtvolumen 1,25 ccm, mit 0,25 ccm 5-fach sensibilisierter 5-proz. Hammelblutaufschwemmung (0,001 ccm Ambozeptor). Ablesung nach 2 Stunden.

Weil in dieser Reaktion noch ein Faktor mehr als bei den Hämolyseversuchen vorhanden ist, muß man daher, ehe man von „Titer“ sprechen kann, wissen, ob eine Variation der Menge der einen Komponente eine Aenderung der erforderlichen Menge für totale Konglutination der anderen Komponenten bedinge. In den vorstehenden Versuchen ist schon erwiesen, daß der Ambozeptortiter sowohl von der Komplement- als auch von der Konglutininmenge unabhängig ist.

Es bleibt zu untersuchen, wie das Verhältnis zwischen Komplement und Konglutinin ist. Nach meinen Untersuchungen ergeben sich die Verhältnisse wie bei den hämo-

lytischen Versuchen zwischen Ambozeptor und Komplement, d. h. der Komplementtiter ist innerhalb weiter Grenzen von der verwendeten Konglutininmenge und umgekehrt der Konglutinintiter von der Komplementmenge unabhängig. Mithin ist auch bei dieser Reaktion der Ausdruck Titer ein berechtigter. Nur bei ganz kleinen und sehr großen Mengen finden sich bisweilen, bei weitem nicht immer, kleinere Abweichungen. Was diese

Versuch 9. Gewöhnliche Technik. Temperatur 37°.

Meerschweinchenserum	häm. Titer	0,016 ccm
Menschenserum (fötales)	" "	0,1 "
Schweineserum (mit Hammelblut behandelt)	" "	0,07 "

Kontrolle: 0,4 ccm inakt. Rinderserum allein	} nach 2 Std. keine Agglutination
0,4 " Schweineserum allein	
0,5 " Menschenserum allein	
0,3 " Meerschweinchenserum allein	

Meerschw.-Serum	Inakt. Rinderserum					
	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	0,02 ccm	0,01 ccm	0,005 ccm
0,2 ccm	+++	+++	+++	++	0	0
0,1 "	+++	+++	+++	++	0	0
0,05 "	+++	+++	+++	++	0	0
0,02 "	+++	+++	+++	++	0	0
0,01 "	+++	+++	+++	++	0	0
0,005 "	+++	+++	+++	++	0	0
0,002 "	0	+++	+++	++	0	0
0,001 "	0	0	0	0	0	0
Menschenserum						
0,2 ccm	+++	+++	+++	++	0	0
0,1 "	+++	+++	+++	++	0	0
0,05 "	+++	+++	+++	++	0	0
0,02 "	+++	+++	+++	+	0	0
0,01 "	+++	+++	+++	0	0	0
0,005 "	+++	+++	+++	0	0	0
0,002 "	+++	+++	+++	0	0	0
0,001 "	0	0	0	0	0	0
Schweineserum						
0,2 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,1 "	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,05 "	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,02 "	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,01 "	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,005 "	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,002 "	+++	+++	+++	+++	+	0
0,001 "	+++	+++	+++	+++	+	0
0,0005 "	0	0	0	0	0	0

Versuch 10. Gewöhnliche Technik. Als Komplemente 1 Pferdeserum und 6 Schweinesera, alle mit Hammelblut vorbehandelt. Temperatur 37°¹⁾.

Hämolysischer Titer:

Schweineserum No. 1	0,5 ccm	Pferdeserum	> 1,0 ccm
" 2	0,2 "		
" 3	0,1 "		
" 4	0,13 "		
" 5	0,16 "		
" 6	0,1 "		

Inakt. Rinder- serum	Komplementserum								
	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	0,02 ccm	0,01 ccm	0,005 ccm	0,002 ccm	0,001 ccm	
0,2	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0	Schwein No. 1
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0	
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0	
0,02	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	
0,01	++	+	+	+	+	0	0	0	
0,2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Schwein No. 2
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,02	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,01	+	+	++	+	+	+	+	+	
0,2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Schwein No. 3
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,02	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,01	++	++	++	++	++	++	++	+	
0,2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Schwein No. 4
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,02	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,01	++	++	++	++	++	++	++	+	
0,2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Schwein No. 5
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,02	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,01	+	+	++	+	+	+	+	+	
0,2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Schwein No. 6
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,02	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,01	+	+	++	+	+	+	+	+	
0,2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Pferd
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	
0,02	+++	++	+	+	+	+	+	+	
0,01	+	0	0	0	0	0	0	0	

Kontrolle: 0,5 ccm Schweineserum (No. 1—6 allein) } nach 2 Stunden
 0,4 „ Pferdeserum allein } keine Agglu-
 0,4 „ inakt. Rinderserum allein } tination

1) Zahlreiche andere Versuche mit gleichem Ergebnis.

anbelangt, so vermute ich teils in betreff der kleineren Mengen, daß sie von der mit diesen sehr herabgeminderten Reaktionsgeschwindigkeit herrühren, teils scheint mir in betreff der großen Dosen die Möglichkeit eines Eingriffes restierender Normalagglutinine nicht ausgeschlossen. Totale Entfernung normaler Antikörper ist, wie bekannt, sehr schwierig, oft unmöglich, daher mag die wahrgenommene Agglutination das Resultat des Zusammenwirkens zwei verschiedener Prozesse sein. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist jedoch, wie sich aus den Versuchen ergibt, von den verwendeten Mengen sehr abhängig, bisweilen auch der Konglutinintiter von der Art des Komplementes. Im Versuch 9 ist z. B. der Konglutinintiter mit Schweineserum 5-fach größer als mit Menschen- und Meerschweinchenserum, ohne daß sich aus den Verhältnissen der Kontrolle eine Erklärung ergibt. In anderen Versuchen ist kein oder ein nur geringer Unterschied gewesen.

Als Komplemente sind Sera von Pferd, Schwein, Meer-schweinchen, Mensch, Schaf und Kaninchen verwendet.

Versuch 11. Schweineserum, mit Hammelblut vorbehandelt. Temperatur 37°.

Inakt. Rinder- serum	Schweineserum in ccm							
	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002
0,2 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,1 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0
0,05 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0
0,02 „	+++	++	++	0	0	0	0	0
0,01 „	+	0	0	0	0	0	0	0

Kontrolle: 0,2 ccm inakt. Rinderserum allein } nach 2 Stunden
 0,5 „ Schweineserum allein } keine Agglutination

Weil die Reaktionsgeschwindigkeit mit größeren Konglutininmengen eine größere ist, habe ich mit 0,2 ccm Rinderserum eine größere Anzahl Komplemente austitriert, die Resultate dieser Versuche sind in der beigefügten Tabelle angegeben, wie auch der im selben Volumen bestimmte hämolytische Titer (für dieselbe Blutmenge im selben Volumen).

Meerschweinchen		Schwein		Pferd		Mensch	
Häm. Titer	Kongl.- Titer	Häm. Titer	Kongl.- Titer	Kongl.- Titer	Kongl.- Titer	Häm. Titer	Kongl.- Titer
0,01	0,001	0,07	0,007	0,005	0,005	0,1	0,003
0,01	0,002	0,1	0,002	0,007	0,003	0,13	0,01
0,013	0,002	0,07	0,005	0,003	0,003	0,1	0,01
0,01	0,005	0,07	0,005	0,002	0,005	0,13	0,002
0,02	0,007	0,08	0,003	0,002	0,002	0,13	0,005
0,01	0,003	0,07	0,005	0,005	[0,05]	0,1	0,007
0,01	0,005	0,07	0,002	0,003	0,005	0,1	0,007
0,01	0,005	0,1	0,003	0,003	0,002	0,1	0,005
0,013	0,002	0,05	0,003	0,003	0,003		
0,008	> 0,05	0,3	0,1	0,005	0,003	Kaninchen	
0,01	0,007	0,08	0,002	0,005	0,003	Häm. Titer	Kongl.- Titer
	[> 0,05]		[0,2]	0,003	0,007	0,1	0,02
0,01	> 0,05	0,5	0,005	.	0,005	0,1	0,07
			[0,05]	.	0,003	0,1	0,05
0,013	0,002	0,2	0,002	.	0,003	0,12	0,06
0,013	0,0005		[0,05]	.	0,002		
0,013	0,003	0,1	0,002	.	0,005	Schaf	
0,01	0,003		[0,05]	.	0,003	Kongl.-Titer	
		0,13	0,002	.	0,003	0,02	0,02
			[0,05]	.	0,005	0,02	0,02
		0,16	0,002	.	0,005	[0,1]	0,02
		0,1	0,001	.	0,007	0,02	
		0,1	0,003	.	0,003	0,015	
		0,2	0,005	.	0,005		

Die in [] angegebenen Ziffern gelten für Titrierung des obenstehenden Komplementes mit älterem Rinderserum. Für Pferde- und Schafserum ist der hämolytische Titer größer als 1,0 ccm gewesen.

Wie hieraus erhellt, sind die Konglutationswerte der Komplemente etwas mehr verschieden als die hämolytischen, besonders gilt dies für das Meerschweinchenserum, dessen hämolytischer Komplementwert den Erfahrungen im hiesigen Institute nach recht konstant ist¹⁾. In der Konglutationsreaktion finden sich dagegen große Variationen ohne jeden Zusammenhang mit den hämolytischen Werten. (Eintritt von Hämolyse verhindert, Muir und Browning [l. c.], die Konglutination nicht.) Uebrigens ergibt sich schon aus den ersten Versuchen von Muir und Browning, daß von irgendeinem Parallelismus keine Rede sein kann, weil Pferdeserum (jedenfalls in dieser Kombination) ein sehr schlechtes hämolytisches Komplement ist, dagegen in der Konglutationsreaktion sehr

1) Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, p. 389; Boas, Wassermanns Reaktion, Berlin.

gut als Komplement wirkt. Sowohl Pferde- als Schweineserum bieten weit weniger Variationen dar und sind wegen ihres geringeren hämolytischen Vermögens für Konglutinationsversuche besonders zu empfehlen.

Bei der Austitrierung der Komplemente ist altes Rinderserum ganz unbrauchbar, weil die damit gewonnenen Ergebnisse nicht zu verwerten sind. Eines Tages, als ich ein 4 Tage altes teils bei $\div 16^{\circ}$ teils bei ca. 18° aufbewahrtes Rinderserum verwendete, ergab es sich, daß alle damit untersuchten Komplemente einen sehr niedrigen Titer erhielten, 25- bis 40mal kleiner als der gleich am selben Tage mit einem anderen frischen Rinderserum bestimmte. Durch Kontratitrierung des alten Rinderserums mit großen Komplementmengen ergab es sich weiter, daß der Ausfall der Komplementtitrierung nicht von einem Mindergehalt an Konglutinin herrührte, denn das alte und das neue Rinderserum hatten beide denselben Titer, sondern anders bedingt sein mußte. Seit der Zeit habe ich öfters dasselbe Phänomen bei alten Rinderseren konstatieren können.

Versuch 12. Gewöhnliche Technik. 2 Rinderseren, das eine frisch, das andere 4 Tage alt. Dieselben Komplementseren wie im Versuch 11. Kontrolle da.

Komplementmenge	Inakt. Rinderserum	Schweineserum						Pferdeserum
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	
0,2	0,2 ccm frisch	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,1		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,05		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,02		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,005		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,002		+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,001		0	++	++	++	++	++	++
0,2	0,2 ccm alt	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,1		++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,05		+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,02		0	+	++	+	0	++	++
0,01		0	0	+	0	0	+	+

Konglutinintiter (mit 0,05 ccm Pferdeserum bestimmt) Rinderserum, alt „ frisch } 0,02 ccm

Weil die Rinderseren bei der Ankunft nicht immer frisch sind, habe ich sie immer sogleich mit einem Schweineserum

austitriert. Der Konglutiningehalt der Rinderseren mag etwas verschieden sein, der Titer ist in den von mir benutzten etwa 30 Seren mit der angegebenen Technik in der Regel zwischen 0,01 und 0,02 ccm gewesen, jedoch ein wenig verschieden gemäß der Art des verwendeten Komplementes.

In mehreren Versuchen habe ich auch die komplettierende Fähigkeit des Schafserums untersucht; hierzu wendet man am besten sensibilisiertes und gewaschenes Blut an. Der Komplementgehalt ist recht klein, wie im Versuch 13 ist der Titer gewöhnlich etwa 0,02 ccm. In größeren Mengen ruft Schafserum, wie auch S t r e n g ¹⁾ festgestellt hat, allein Konglutination hervor. Als Konglutinin wirkt Schafserum bedeutend schlechter als Rinderserum, teils muß man größere Mengen von Schafserum als von Rinderserum verwenden (in der Regel ist 0,1 bis 0,2 ccm notwendig), teils erhält man durch Titrierung mit Schafserum erheblich niedrigere Komplementtiter. Mehrmals ist eine Aktivierung des inaktivierten Schafserums überhaupt unmöglich gewesen.

Versuch 13. Gewöhnliche Technik, das Blut ist jedoch 1 Stunde bei 37° sensibilisiert, dann 2mal gewaschen.

Inakt. Rinder- serum	Konglutination nach 2 Std.					Inakt. Schaf- serum	Kongl. nach 2 Std.	
	Aktives Schafserum in ccm						allein	+ Schweine- serum 0,05 ccm
	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01			
0,2 ccm	+++	+++	+++	+++	0	0,5 ccm	0	+++
0,1 „	+++	+++	+++	+++	0	0,3 „	0	+++
0,05 „	+++	+++	+++	+++	0	0,2 „	0	+++
0,02 „	+++	+++	++	++	0	0,1 „	0	++
0,01 „	+++	+++	0	0	0	0,07 „	0	+
0	+++	++	0	0	0			

Weil die Konglutination von einer Reaktion zwischen Komplement und Konglutinin bedingt ist, liegt die Möglichkeit nahe, daß das Lagern einer Mischung von Komplement und Rinderserum vor dem Zusatz der sensibilisierten Blutkörperchen den Erfolg der Reaktion beeinflussen könnte. Es ergab sich indessen (Versuch 14), daß das nicht der Fall ist; nur wenn eine verdünnte Mischung längere Zeit gestanden, war die Reaktionsgeschwindigkeit etwas herabgesetzt, was sich

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 2, 1909, p. 415.

doch aus der dabei eintretenden Schwächung des Komplementes wahrscheinlich erklären läßt.

Versuch 14. Gewöhnliche Technik. In allen Gläsern 0,05 ccm Schweineserum und 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum. Sowohl bei gleichzeitigem Zusatz, als auch wenn das Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde nach dem Komplemente hinzugesetzt wird, totale Konglutination in 15 Min. Rinderserum und Schweinekomplement werden unverdünnt gemischt und dann 1) unverdünnt, 2) auf 1 ccm verdünnt bei ca. 18° hingestellt.

Nachdem die Mischungen gestanden	Totale Konglutination	
	No. 1	No. 2
$\frac{1}{2}$ Stunde	in 15'	in 15'
1 "	„ 15'	„ 15'
2 "	„ 15'	„ 20'
4 "	„ 15'	„ 30'

Während seit der Beobachtung Ferratas (l. c.) zahlreiche Untersuchungen über die Bedeutung der Komplementfraktionen bei der Hämolyse und der Bakteriolyse unternommen waren, fand sich, als ich diese Frage in betreff der Konglutinationsreaktion vornahm, nur eine Mitteilung von Sleeswijk¹⁾, daß weder der bei der Dialyse entstandene Niederschlag noch die darüber stehende Flüssigkeit es vermochten, Konglutination zu ergeben; ob sie vereint dazu imstande wären, darüber läßt er sich nicht aus. Später hat Gengou²⁾ einen Versuch mit Meerschweinchenserum veröffentlicht, wobei das Mittelstück allein in Vereinigung mit Rinderserum Konglutination hervorrief, das Endstück hingegen ohne Wirkung war. Er schließt daraus, daß für die Konglutination nicht das ganze Komplement, sondern nur der Globulinteil erforderlich sei. Diese Folgerung stimmt mit den Ergebnissen meiner Untersuchungen, wo in den allermeisten Fällen die Gegenwart beider Fraktionen notwendig gewesen, nicht überein. Worauf dieser Unterschied beruht, muß dahingestellt sein, mit Meerschweinchenglobulin allein habe ich nie Konglutination erhalten. Der einzige Unterschied der Technik ist derjenige, daß Gengou die Fraktionen durch Dialyse, ich durch Liefmanns Methode gewonnen habe. Schweine- und Hammelglobuline sind die einzigen der von mir untersuchten Globu-

1) l. c.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 725.

line, die allein als Komplemente wirken können. Als Beispiele führe ich hier die folgenden Versuche an.

Versuch 15. Meerschweinchenserum (hämolysischer Titer 0,01 ccm, Konglutinationstiter 0,002 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten mit CO_2 , M $\frac{1}{1}$ gelöst¹⁾.

	E allein	M allein
Hämolyse. Titer (M + E $\bar{a}\bar{a}$) 0,01 ccm	0,1 ccm 50	0,2 ccm 0
	0,05 „ 20	0,1 „ 0
	0,02 „ 0	

Konglutination. Allein wirken weder E noch M in Mengen von 0,01—0,1 ccm als Komplement.

Kontrollen. 0,4 ccm Rinderserum } nach 4 Stunden bei 37°
0,2 „ Meerschweinchenserum } keine Agglutination

E + M $\bar{a}\bar{a}$	Kongl. nach 2 Std.
0,02 ccm	+++
0,01 „	+++
0,007 „	+++
0,005 „	+++
0,003 „	+++
0,002 „	+++
0,001 „	0

Versuch 16. Pferdeserum (hämolysischer Titer > 1,0 ccm, Konglutinationstiter 0,003 ccm) mit CO_2 in Verdünnung $\frac{1}{5}$ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Weder E noch M vermögen in Mengen bis 0,1 ccm als Komplement zu wirken.

Kontrollen. 0,5 ccm Rinderserum } nach 2 Stunden bei 37°
0,2 „ Pferdeserum } keine Agglutination

E + M $\bar{a}\bar{a}$	Kongl. nach 2 Std.
0,05 ccm	+++
0,03 „	+++
0,02 „	+++
0,01 „	+++
0,007 „	+++
0,005 „	+++
0,003 „	0 ²⁾

Versuch 17. Gewöhnliche Technik. Schweineserum (hämolysischer Titer 0,05 ccm, Konglutinationstiter 0,003 ccm) mit CO_2 in Verdünnung $\frac{1}{5}$ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst.

Hämolyse: Titer (M + E $\bar{a}\bar{a}$) 0,1 ccm 0,2 ccm M 0
0,1 „ E 0

Konglutination: E allein keine Konglutination.

1) Erklärung siehe diese Zeitschr., Bd. 25, p. 47.

2) Zahlreiche Versuche mit gleichem Ergebnis.

Konglutination nach 2 Stunden			
M		E + M āā	
0,1 ccm	+++	0,03 ccm	+++
0,07 „	+++	0,02 „	+++
0,05 „	+++	0,01 „	+++
0,03 „	+++	0,007 „	+++
0,02 „	++	0,005 „	+++
0,01 „	+	0,003 „	+++
		0,002 „	+
		0,001 „	0 ¹⁾

Kontrollen: 0,4 ccm Rinderserum } allein nach 4 Std. bei 37°
 0,5 „ Schweineserum } keine Agglutination

Versuch 18. Gewöhnliche Technik. Hammelserum (1,0 ccm: Hämolyse 30, Konglutinationstiter 0,02 ccm) mit CO₂ in Verdünnung 1/5 gespalten, M 1/1 gelöst.

Kontrollen: 0,4 ccm Rinderserum } allein
 0,07 „ Hammelserum } nach 2 Std. bei 37°
 0,1 „ „ E } keine Agglutination

Konglutination nach 2 Stunden			
M		E + M āā	
0,2 ccm	++	0,1 ccm	+++
0,1 „	+	0,07 „	+++
0,07 „	0	0,05 „	+++
0,05 „	0	0,03 „	+++
		0,02 „	+++
		0,01 „	+ ¹⁾

Das Ergebnis wiederholter Versuche ist immer dasselbe wie in diesem Versuche gewesen. Meerschweinchenglobuline haben nie die Fähigkeit gehabt, allein Konglutination hervorzurufen, dagegen habe ich einige Male beobachtet, daß Pferdealbumine allein Konglutination geben können (siehe Versuch 24). Schweineglobuline dagegen sind immer fähig gewesen, in größeren Mengen als Komplement zu wirken; dieses Vermögen variiert ziemlich bedeutend, durchschnittlich ist die Menge Globulin, die noch allein als Komplement zu wirken vermag, 10mal größer als der Komplementtiter, d. h. der Zusatz von Albumin vergrößert den Titer 10mal; das Vermögen ist von der Verdünnung, in der die Globuline niedergeschlagen werden, abhängig, indem es in den Globu-

1) Zahlreiche Versuche mit gleichem Ergebnis.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XXV.

16

linen, die aus stärker verdünntem Serum niedergeschlagen, größer ist (Versuch 19).

Versuch 19. Gewöhnliche Technik. Schweineserum (hämolytischer Titer 0,08 ccm, Konglutinationstiter 0,003 ccm) mit CO_2 in Verdünnung 1) $\frac{1}{8}$, 2) $\frac{1}{10}$, 3) $\frac{1}{20}$ gespalten; M $\frac{1}{1}$ gelöst. In Mengen bis 0,1 ccm geben weder E noch M Eigenhämolysen. E vermag auch nicht als Komplement zu wirken.

M	Konglutination nach 1 Std.			E + M ää	Konglutination nach 1 Std.		
	M No. 1	M No. 2	M No. 3		M No. 1	M No. 2	M No. 3
0,07 ccm	+++	+++	+++	0,05 ccm	+++	+++	+++
0,05 „	+++	+++	+++	0,03 „	+++	+++	+++
0,03 „	+++	+++	+++	0,02 „	+++	+++	+++
0,02 „	++	+++	+++	0,01 „	+++	+++	+++
0,01 „	+	++	+++	0,007 „	+++	+++	+++
0,007 „	0	+	+	0,005 „	+++	+++	+++
0,005 „	0	0	0	0,003 „	+++	+++	+++
				0,002 „	+++	+++	+++
				0,001 „	0	0	0

Die Reaktivierung der gespaltenen Komplemente ist durchgängig gut gelungen, öfters mit Erreichung des ursprünglichen Titors. Zufällig hat es sich auch eines Tages erwiesen, daß sich in der Konglutination ein dem in der Hämolysen als Brands Modifikation beschriebenen ganz entsprechendes Phänomen findet: die Reaktivierung von Meerschweinchenfraktionen war, solange ich die Fraktionen zu gleicher Zeit hinzusetzte, völlig unmöglich, dagegen trat die Konglutination ein, als ich das Globulin erst eine halbe Stunde bei 37° binden ließ und dann erst das Albumin und Konglutinin hinzusetzte. Es handelt sich gewiß auch um die nämliche Umbildung, weil ich in der Konglutinationsreaktion eine Hemmung nie beobachtet habe, wenn eine solche nicht zugleich in hämolytischen Versuchen nachgewiesen werden konnte. Mit Meerschweinchenglobulinen ergibt sich dieser Verlauf wesentlich, wenn sie in geringer Verdünnung, nicht aber, wenn sie in stärkerer Verdünnung niedergeschlagen worden sind (Versuch 20). Der nämliche Verlauf ergibt sich ferner bei Anwendung von Fraktionen von Menschen- und Kaninchenserum wie auch bei hämolytischen Versuchen und tritt mit diesen Globulinen schon bei der ersten Untersuchung gleich nach der Lösung ein (Versuch 21). Die Reaktivierung

umgebildeter Globuline läßt sich mit weit besserem Erfolge erzeugen, wenn das Rinderserum zuerst zu gleicher Zeit mit der Albuminfraktion hinzugesetzt wird. Wie bei Hämolyseversuchen erfordert Menschenglobulin eine längere Bindung als Meerschweinchglobulin. Aus Kaninchenserum sind die in Verdünnung $\frac{1}{5}$ gewonnenen Fraktionen öfters ganz unwirksam, nur haben die Albumine bisweilen allein Komplementwirkung, die in Verdünnung $\frac{1}{10}$ gewonnenen Fraktionen ergeben ähnliche Verhältnisse wie bei hämolytischen Versuchen.

Versuch 20. Meerschweinchenserum (hämolysischer Titer 0,01 ccm Konglutinationstiter 0,002 ccm) mit CO_2 gespalten in der Verdünnung a) $\frac{1}{5}$ b) $\frac{1}{10}$, M wird $\frac{1}{1}$ gelöst. Nur E von a) wird benutzt.

Hämolyse: Titer ($\bar{a}\bar{a}$ M + E) 0,01 ccm.

E allein			M allein		
0,1	ccm	50	0,2	ccm	} 0
0,05	„	20	0,1	„	
0,02	„	0			

Konglutination: Weder E noch M vermögen allein als Komplement zu wirken.

M + E $\bar{a}\bar{a}$	Kongl. nach	M a			M b		
		30'	60'	120'	30'	60'	120'
0,02 ccm		+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01 „		+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,007 „		+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,005 „		+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,003 „		++	+++	+++	++	+++	+++
0,002 „		+	+++	+++	+	+++	+++
0,001 „		0	0	0	0	0	0

Die M-Lösungen werden dann 2 Stunden bei 37° hingestellt.

Hämolyse:

E + M $\bar{a}\bar{a}$	E gleich		E nach $\frac{1}{2}$ Std.	
	M a	M b	M a	M b
0,05 ccm	0	100	100	100
0,03 „	0	100	100	100
0,02 „	0	100	70	100
0,01 „	0	100	50	100

Konglutination: M b dasselbe Resultat wie oben.

E + M a $\bar{a}\bar{a}$	E gleich		E und Rinderserum	
	nach 120'		$\frac{1}{2}$ Std. nach M	nach 60'
0,02 ccm	} 0		+++	
0,01 „			+++	
0,007 „			+++	
0,005 „			+++	
0,003 „			+	
0,002 „			0	

Versuch 21. Menschenserum (Nabelschnurserum; hämolytischer Titer 0,1 ccm, Konglutinationstiter 0,01 ccm) mit CO₂ in der Verdünnung $\frac{1}{6}$ gespalten. Weder E noch M vermögen allein als Komplement zu wirken.

Hämolyse: 0,1 ccm E + M $\bar{a}\bar{a}$ E gleich 0
E 1 Std. nach M 70

Konglutination:

E + M $\bar{a}\bar{a}$	E gleich	E u. Rinderserum $\frac{1}{2}$ Std. nach M	E u. Rinderserum 1 Std. nach M
0,07 ccm	+++	+++	+++
0,05 "	+	+	+++
0,03 "	0	0	+++
0,02 "			+++
0,01 "			0

Kaninchenserum (hämolytischer Titer 0,1 ccm, Konglutinationstiter 0,07 ccm). In der Verdünnung $\frac{1}{6}$ mit CO₂ gespalten.

Weder E noch M allein noch beide zusammen vermögen als Komplement zu wirken, E gleich oder 1 Std. nach M hinzugesetzt.

In der Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten.

Allein vermögen weder M noch E als Komplement zu wirken, zusammen geben sie auch nicht Hämolyse und Konglutination, wenn E gleich hinzugesetzt wird, dagegen wohl, wenn E 1 Stunde nach M hinzugesetzt wird, und zwar geben dann 0,08 ccm E + M $\bar{a}\bar{a}$ noch totale Konglutination.

Wie nach dem Erfolg früherer Versuche zu erwarten war, gab die Austitrierung der Fraktionen in wechselnden Mengen ein verschiedenes Resultat mit Bezug auf die Art des verwendeten Serums. Mit Pferde- und Meerschweinchenserum ist der Titer der einen Fraktion (wobei hier wie sonst überall die geringste Menge, die unter den gegebenen Bedingungen für totale Konglutination hinreicht, zu verstehen ist), wenn die Spaltung den gewöhnlichen Erfolg ergeben, von der anwesenden Menge der anderen Fraktion nicht abhängig, d. h. die Fraktionen haben einander nicht ersetzen können. Einen ganz abweichenden Verlauf mag die Austitrierung des Pferdeserums ergeben, wenn die Spaltung unvollständig ist und die Albuminfraktionen allein konglutationsbedingende Fähigkeit behalten haben, wie im Versuch 24.

Versuch 22. Meerschweinchenserum (hämolytischer Titer 0,013 ccm, Konglutinationstiter 0,002 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO₂ gespalten; M $\frac{1}{1}$ gelöst. Nach der Spaltung hämolytischer Titer M + E $\bar{a}\bar{a}$ 0,015 ccm; Konglutinationstiter 0,002 ccm. Der Hauptversuch nach 1 Stunde bei 37° abgelesen¹⁾.

1) Zahlreiche Versuche mit gleichem Resultat.

Konglutination.

M	E in ccm										
	0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0,003	0,002	0,001
0,1 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,07 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,05 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,03 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,02 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,01 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,007 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,005 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,003 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,002 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,001 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0

Versuch 23. Pferdeserum (Konglutinationstiter 0,007 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Nach 2 Stunden bei 37° abgelesen. Der Versuch jede 2 Min., später jede 5 Min. geschüttelt¹⁾.

M	E in ccm									
	0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0,003	0
0,1 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
0,07 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
0,05 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	0
0,03 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	0
0,02 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	0
0,01 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	0
0,007 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	0
0,005 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	0
0,003 "	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0
0,002 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuch 24. Pferdeserum (Konglutinationstiter 0,002 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{8}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Allein gibt M in Mengen bis 0,1 ccm keine Konglutination, E jedoch totale Konglutination in Mengen bis 0,02 ccm. Der Versuch nach 2 Stunden bei 37° abgelesen.

M		E in ccm							
		0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005
0,1	ccm	+++	++	0	0	0	0	0	0
0,05	„	+++	+++	+++	++	+	0	0	0
0,02	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,01	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,005	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,002	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,001	„	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
0,0005	„	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
0	„	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0

Größere M-Mengen haben hier hemmende Wirkung.

1) Zahlreiche Versuche mit gleichem Resultat.

Die Fraktionen des Schweineserums ergeben, weil hier das Globulin allein Konglutination bedingt, ein etwas verschiedenes Verhältnis. Erstens ist ja der Albuminteil überhaupt entbehrlich, wenn hinreichende Globulinmengen benutzt werden, aber auch Globulinmengen, die nicht allein totale Konglutination ergeben können, sich jedoch der für diesen Zweck nötigen Größe nähern, sind dazu imstande mit einem Zusatz von Albuminmengen, die kleiner als der Titer sind. Insofern dagegen Albuminmengen, größer als der Titer, verwendet werden, ist der Globulintiter von der Menge des Albumins unabhängig. Hier läßt sich also Albumin durch Globulin ersetzen, nicht aber umgekehrt.

Versuch 25. Schweineserum (mit Hammelblut behandelt; Hämolysatiter 0,07 ccm; Konglutinationstiter 0,002 ccm) in der Verdünnung $\frac{1}{6}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{6}$ gelöst.

M allein	E allein
0,01 ccm + + +	0,1 ccm } 0
0,007 „ + +	0,05 „ }
0,005 „ +	0,01 „ }

Titer (ää E + M) 0,02 ccm¹).

Konglutination nach 1 Stunde bei 37°.

M	E in ccm										
	0,05	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0,003	0,002	0,001	0,0007	0,0005
0,02 ccm	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,007 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
0,005 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0
0,003 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.
0,002 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.
0,001 „	++	++	++	++	++	++	+	+	.	.	.
0,0007 „	+	+	+	+	+	+	0	0	.	.	.

Albumin und Globulin verschiedener Seren lassen sich gegenseitig aktivieren, jedenfalls in den von mir untersuchten Kombinationen (Pferde-, Meerschweinchen-, Schweine-, Menschen-Fraktionen). In allen Versuchen ist die Reaktion am schnellsten verlaufen, wenn Schweinefraktionen verwendet wurden.

Versuch 26. Pferde- und Schweineserum mit CO_2 in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ gespalten, M $\frac{1}{6}$ gelöst. Die verwendeten Mengen geben allein nicht Konglutination.

1) Mehrere andere Versuche erzeugen im großen und ganzen dasselbe Resultat.

Pferde- M	0,02 Pferde- E	0,02 Schweine- E	Schweine- M	0,02 Pferde- E	0,02 Schweine- E
0,05 ccm	+++	+++	0,02 ccm	+++	+++
0,03 „	+++	+++	0,01 „	+++	+++
0,02 „	+++	+++	0,007 „	+++	+++
0,01 „	+++	+++	0,005 „	+++	+++
0,007 „	+++	+++	0,003 „	+++	+++
0,005 „	+	++	0,002 „	+++	+++
0,003 „	0	0	0,001 „	0	++
0 „	0	0	0 „	0	0

Da die Konglutination von der Anwesenheit des Komplements abhängig ist, hätte Serum nach der Inaktivierung nicht wirken sollen; solches ist auch nicht der Fall gewesen, nach einem $\frac{1}{2}$ -ständigen Erhitzen auf 56° sind Sera von Schwein, Pferd, Kaninchen und Meerschweinchen eben in Dosen, welche 100–200mal größer als die für die aktiven Sera bestimmten Titer sind, immer unwirksam gewesen. In solchen inaktivierten Seren habe ich auch keine Mittelstück-Funktion nachweisen können. Ebenso wenig sind die isolierten Komponenten thermoresistent, sondern haben immer durch ein $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 56° jede Fähigkeit, in der Hämolyse als auch in der Konglutination zu wirken, verloren; und und zwar wird die Endstück-Funktion bedeutend schneller als die Mittelstück-Funktion zerstört. Wie die beigefügten Versuche zeigen, geben hämolytische und Konglutinationsversuche ganz übereinstimmende Resultate in betreff des Verlaufes der Zerstörung.

Versuch 27¹⁾. Gewöhnliche Technik. Der Versuch jede 5 Minuten geschüttelt und nach 2 Stunden abgelesen. Pferdeserum im Jenaer Kölbchen im Wasserbade auf $54,9^{\circ}$ erhitzt, Probe 0 genommen, wenn die Temperatur im Serum $54,9^{\circ}$ erreicht hat, 4 Minuten nach dem Einbringen.

Serum	Titer Serum allein	Serum + 0,02 ccm E	Serum + 0,05 ccm M
nicht erhitzt	0,01 ccm	0,01 ccm	0,01 ccm
erhitzt 0'	0,1 „	0,02 „	0,1 „
„ 2'	0,2 „	0,05 „	0,2 „
„ 4'	0,5 „	0,1 „	0,5 „
„ 6' }	> 0,5 „	0,3 „	> 0,5 „
„ 10' }		0,5 „	
„ 20' }		„	
„ 30' }		„	

1) Vgl. diese Zeitschr., Bd. 25, p. 94.

Kontrollen:	0,2 ccm Rinderserum allein	} keine Konglutination nach 3 Stunden
	0,2 „ Pferdeserum „	
	0,05 „ „ E „	
	0,05 „ „ M „	

Aus der Literatur ergibt sich, daß Blutkörperchen genügend Komplement, um sich nach dem Zentrifugieren konglutinieren zu lassen, zu binden vermögen. Wie sich aus den Erfahrungen hämolytischer Versuche erwarten ließ, wird Mittelstück viel leichter als Endstück gebunden, d. h. die Blutkörperchen werden leicht persensibilisiert, aber die erforderliche Endstück-Menge nur mit größerer Schwierigkeit gebunden. Eben bei der Anwesenheit größerer Komplementmengen wird nicht viel mehr als die für totale Konglutination erforderliche Menge gebunden, in den nachfolgenden Versuchen sind von zwei Einheiten nicht viel mehr als die eine gebunden, und in allen Mischungen, welche mehr als zwei Einheiten enthalten, ist nach der Absorption mehr als eine Einheit übriggeblieben.

Versuch 28¹⁾. 2 Gläser mit 0,05 ccm Pferdeserum und 0,25 ccm 5-fach sensibilisierter 5-proz. Hammelblutaufschwemmung stehen 1 Stunde bei 37° im Volumen 1,0 ccm. Dann wird zentrifugiert, die Niederschläge 2mal gewaschen, und in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und das Volumen (die Zusätze eingerechnet) auf 1,25 ccm gebracht.

Konglutination mit			
0,1 ccm Rinderserum		0,1 ccm Rinderserum 0,02 ccm Pferde-E	
nach		nach	
15'	++	15'	+++
30'	++	30'	+++
60'	++	60'	+++
Wie oben, nur 0,01 ccm Pferdeserum			
15'	+	15'	+++
30'	+		
60'	+		

Versuch 29. Schweineserum (mit Hammelblut behandelt, hämolytischer Titer 0,07 ccm, Konglutinationstiter 0,005 ccm) wird mit CO₂ in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst, gibt in Mengen bis 0,02 ccm allein Konglutination, 2 Reihen mit 0,25 ccm 5-fach sensibilisierte 5-proz. Hammelblutaufschwemmung mit angegebenen Mengen von M werden im

1) Zahlreiche Versuche mit gleichem Resultate mit Schweine-, Pferde- und Meerschweinchenserum.

Totalvolumen 0,7 ccm 1 Stunde bei 37° hingestellt, wonach alle Gläser zentrifugiert werden.

Die Niederschläge werden mit den angegebenen Zusätzen und Kochsalzlösung auf 1,25 ccm gebracht			Den abgegossenen Flüssigkeiten werden 0,25 ccm 5-fach sensibilisiertes 5-proz. Hammelblut, die angegebenen Zusätze und Kochsalzlösung bis 1,25 ccm zugesetzt		
M	+ 0,2 ccm Rinderserum	+ 0,2 ccm Rinderserum + 0,04 ccm Schweine-E	M	+ 0,2 ccm Rinderserum	+ 0,2 ccm Rinderserum + 0,04 ccm Schweine-E
0,1 ccm	nach 1 St. alle 0	nach 15' alle +++ 0	0,1 ccm	nach 1 St. alle 0	n. 15', 30', 60'
0,07 "			0,07 "		+++
0,05 "			0,05 "		+++
0,03 "			0,03 "		+++
0,02 "			0,02 "		+++
0,01 "			0,01 "		++
0,007 "			0,007 "		0
0,005 "			0,005 "		0
0 "			0 "		0

Ebenso wie in der Hämolyse wird auch in der Konglutination die Komplementwirkung durch eine erhöhte Salzkonzentration verhindert, doch wird in solchen konzentrierten NaCl-Lösungen Mittelstück gebunden.

Und ebenfalls ist die Konglutination von der H-Ionenkonzentration des Mediums abhängig, und im großen und ganzen weisen meine Versuche nach, daß zwischen Hämolyse und Konglutination in betreff ihres Verhaltens der H-Ionenkonzentration gegenüber gute Uebereinstimmung ist. Versuche mit Anwendung einer Technik, welche der von Michaelis und Skwirsky¹⁾ bei hämolytischen Versuchen verwendeten ganz entspricht, haben erwiesen, daß Konglutination in sauren Phosphatmischungen ($\frac{1}{10}$, $\frac{2}{10}$ und bisweilen $\frac{3}{10}$ nicht eintritt), von Phosphatmengen überhaupt gehemmt wird und in Mischungen mit Phosphatlösungen $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}$ am schnellsten verläuft und daß die Wirkung der sauren Phosphatmischungen antireaktiv ist, d. h. durch Zusetzung der umgekehrt zusammengesetzten Phosphatmischung aufgehoben wird.

Versuch 30. In allen Gläsern 0,25 ccm 5-fach sensibilisiertes 5-proz. Hammelblut und 0,1 ccm inaktiviertes Rinderserum. Temp. 16°. Fortwährendes Schütteln. Phosphatmischungen nach Michaelis und Skwirsky. Pferdeserum in der Verdünnung $\frac{1}{6}$ mit CO₂ gespalten, M $\frac{1}{1}$

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 4, 1910, p. 357.

gelöst. Titer 0,005 ccm, nach der Spaltung $\bar{a}\bar{a}$ M + E 0,007 ccm. Schweineserum in der Verdünnung $\frac{1}{5}$ mit CO_2 gespalten, M $\frac{1}{1}$ gelöst. Titer 0,003 ccm, nach der Spaltung 0,005 ccm.

I. Pferdeserum. 0,02 ccm Serum in allen Gläsern.

Phosphatmenge	prim. sek.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{4}{5}$	$\frac{1}{1}$
Konglutination nach $\frac{1}{2}$ Stunde										
0,8 ccm		0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6 "		0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5 "		0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4 "		++	++	++	+++	++	0	0	0	0
0,3 "		+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0
0,25 "		+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0
Konglutination nach 1 Stunde										
0,8 ccm		0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6 "		+	+	+	+	+	0	0	0	0
0,5 "		++	++	++	++	++	+	0	0	0
0,4 "		+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0	0
0,3 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0
0,25 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0

II. Schweineserum. 0,02 ccm Serum in allen Gläsern.

Phosphatmenge	prim. sek.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{4}{5}$	$\frac{1}{1}$
Kongl. n.										
0,5 ccm	60'	+	++	+++	+++	++	0	0	0	0
	120'	++	+++	+++	+++	+++	+	0	0	0
	240'	++	+++	+++	+++	+++	++	0	0	0
0,4 ccm	30'	0	0	+	+	0	0	0	0	0
	60'	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0
	120'	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0	0
	240'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0	0
0,3 ccm	15'	+	+	+	++	0	0	0	0	0
	45'	+++	+++	+++	+++	++	++	0	0	0
	60'	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
	240'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0
0,25 ccm	15'	++	++	++	+++	+	0	0	0	0
	45'	+++	+++	+++	+++	++	++	0	0	0
	60'	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
	120'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
0,2 ccm	15'	++	++	++	+++	+	0	0	0	0
	45'	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0	0
	120'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
0,1 ccm	10'	0	0	0	++	0	0	0	0	0
	15'	++	++	++	+++	++	0	0	0	0
	45'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
	120'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Schweine- serum	Inakt. Rinder- serum	5fach sens. 5-proz. Hammel- blut	Phosphat- mischung $\frac{1}{8}$	Im Vol. 1,0 ccm 1 Std. bei 37°	Kongl. nach Zusatz von	
					0,25 ccm Kochsalz- lösung	0,25 ccm $\frac{1}{8}$ Phosphat- lösung
0,02 ccm	0,1 ccm	0,25 ccm	0,25 ccm		nach 2 St. 0	nach 15' +++

4 Reihen mit				Im Vol. 1 Std. bei 37°. Dann wird zentrifugiert, die Nieder- schläge gewaschen, mit Zu- sätzen auf 1,25 ccm gebracht	Konglutination mit Zusatz von			
Pferde- serum	inakt. Rinder- serum	5fach sens. 5-proz. Hbl.	Phosphat- lösung $\frac{1}{8}$		Koch- salz- lösung allein	0,02 ccm Schw.- Serum E	0,1 ccm inakt. Rinder- serum	0,1 ccm Rinders. 0,02 ccm E
0,01 ccm	0,1 ccm	0,25 ccm	0,8 ccm		n. 1 St. 0	n. 1 St. 0	n. 1 St. 0	n. 15' +++
0,01 "	0,1 "	0,25 "	0,6 "					
0,01 "	0,1 "	0,25 "	0,5 "					
0,01 "	0,1 "	0,25 "	0,4 "					
0,01 "	0,1 "	0,25 "	0,3 "					
0,01 "	0,1 "	0,25 "	0,25 "					

Kontrolle: 0,4 ccm Rinderserum allein } nach 2 Stunden
 0,4 " Pferdeserum " } keine Agglutination
 0,4 " Schweineserum " }

Weil in diesen Versuchen die H^+ -Ionenkonzentration nicht gemessen war und nicht aus den verwendeten Phosphatmischungen wegen der großen Serummengen sich berechnen ließ, habe ich p_H in einigen Versuchen elektrometrisch gemessen. Um in diesen Versuchen hinreichende Mengen von Puffer zu haben, sind etwas größere Mengen von inaktiviertem Rinderserum verwendet worden (was ja keine prinzipielle Bedeutung hat, siehe oben), dadurch wird auch die Einführung eines fremden Faktors entbehrlich. Die Veränderungen im p_H sind durch HCl und $NaCl$ hervorgerufen ($n/_{10}$ HCl - und $NaOH$ -Lösungen hergestellt durch Mischung von gleichen Teilen $n/_{5}$ -Lösung und 1,8-proz. $NaCl$ -Lösung) und die Messungen im Hasselbachschen Apparat vorgenommen mit fortwährendem Schütteln¹⁾. (Siehe Versuch 31, p. 246.)

In zwei anderen Versuchen ist totale Hemmung der Konglutination bei p_H 5,25 resp. 9,29, Konglutination + bei p_H 5,57 resp. 9,04, Konglutination ++ bei p_H 5,69 resp. 8,89, totale Konglutination bei p_H 5,83 resp. 8,46.

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 49, 1913, p. 451.

Versuch 31. Temperatur 18,1—18,7°.

Inakt. Rinder- serum	n/10 HCl	0,9-proz. NaCl	Pferde- serum	5-fach sens. 5-0/ Hbl.	pH	Konglutination	
						total n.	n. 4 Std.
5,0 ccm	3,0 ccm	31,5 ccm	0,5 ccm	10 ccm	—		—
5,0 "	2,6 "	31,9 "	0,5 "	10 "	5,00		0
5,0 "	2,3 "	32,2 "	0,5 "	10 "	5,37		0
5,0 "	2,0 "	32,5 "	0,5 "	10 "	5,71		++
5,0 "	1,6 "	32,9 "	0,5 "	10 "	5,96	3 Std.	+++
5,0 "	1,3 "	33,2 "	0,5 "	10 "	6,29	2 "	+++
5,0 "	1,0 "	33,5 "	0,5 "	10 "	6,45	1 ³ / ₄ "	+++
5,0 "	0,5 "	34,0 "	0,5 "	10 "	6,96	1 ¹ / ₄ "	+++
5,0 "	0 "	34,5 "	0,5 "	10 "	7,41	1 "	+++
	n/10 NaOH						
5,0 ccm	0,05 ccm	34,45 ccm	0,5 ccm	10 ccm	7,40	1 Std.	+++
5,0 "	0,1 "	34,4 "	0,5 "	10 "	7,37	1 "	+++
5,0 "	0,2 "	34,3 "	0,5 "	10 "	7,40	1 "	+++
5,0 "	0,3 "	34,2 "	0,5 "	10 "	7,46	1 "	+++
5,0 "	0,35 "	34,15 "	0,5 "	10 "	7,50	1 "	+++
5,0 "	0,4 "	34,1 "	0,5 "	10 "	7,58	3/4 "	+++
5,0 "	0,45 "	34,05 "	0,5 "	10 "	7,75	3/4 "	+++
5,0 "	0,5 "	34,0 "	0,5 "	10 "	8,03	1 ¹ / ₄ "	+++
5,0 "	0,6 "	33,9 "	0,5 "	10 "	8,33	3 "	+++
5,0 "	0,8 "	33,7 "	0,5 "	10 "	8,75		++
5,0 "	1,0 "	33,5 "	0,5 "	10 "	9,09		+
5,0 "	1,2 "	33,3 "	0,5 "	10 "	9,41		0

Konglutination kann danach — mit Ueberschuß von Komplement und Konglutinin — innerhalb einer Zone von ungefähr p_H 5,31 bis 9,1 vor sich gehen, jedoch wird die Konglutination nur komplett innerhalb einer etwas engeren Zone von p_H etwa 5,8 bis 8,5. Die Konglutination ist in diesen Versuchen bei einer Reaktion p_H etwa 7,7 am schnellsten verlaufen. Auch auf diesem Gebiete findet sich also gute Uebereinstimmung zwischen Konglutination und Hämolyse.

Zusammenfassung.

Die Geschwindigkeit der Konglutination sowie die der Hämolyse wird vergrößert durch Vermehrung der Komplement- und der Ambozeptormenge sowie auch der Konglutininmenge, durch Verminderung des Volumens, indem die Reaktion bei gleichem Volumen mit gleicher Geschwindigkeit verläuft, und durch Herabminderung der Blutmenge.

Die Konglutination verläuft schneller bei 37° als bei $16-18^{\circ}$ und schneller, wenn die Gläser in steter Bewegung gehalten werden.

Der Ambozeptortiter ist von der verwendeten Menge Komplement und Konglutinin unabhängig.

Der Komplementtiter ist jedenfalls wesentlich von der Menge des Konglutinins unabhängig und umgekehrt der Konglutinititer von der Komplementmenge unabhängig. Die verschiedenen Seren haben einen sehr verschiedenen Wert als Komplemente ohne Zusammenhang mit ihrer hämolytischen Fähigkeit in demselben Systeme. Für die Konglutination ist sowohl Albumin- als Globulinteil erforderlich, und in der Regel kann keine der Fraktionen allein die Konglutination bewirken. Fraktionen verschiedener Seren können einander gegenseitig ersetzen.

Schweineglobuline rufen allein Konglutination hervor, und diese Fähigkeit ist um so größer, je größer die Verdünnung ist, in welcher die Globuline niedergeschlagen sind.

Globuline mit der Brandschen Modifikation können, so wie in hämolytischen Versuchen bei gleichzeitigem Zusatz nicht wirken, sondern nur wenn das Albumin später hinzugesetzt wird; die Reaktivierung modifizierter Globuline ergibt sich am besten, wenn auch das Rinderserum später hinzugesetzt wird.

Sensibilisierte Blutkörperchen können wohl hinreichendes Komplement binden, um sich konglutinieren zu lassen, doch wird die Globulinfunktion viel leichter als die Albuminfunktion gebunden.

Die Reaktion findet in höheren Konzentrationen von NaCl nicht statt, doch wird die Globulinfunktion gebunden. Die Konglutination findet nur innerhalb einer Zone zwischen p_H 5,31 bis 9,1 statt und wird nur innerhalb etwas engerer Grenzen p_H 5,8 bis 8,5 komplett. Die von sauren Phosphatmischungen hervorgerufene Hemmung ist nur antireaktiv und wird durch Neutralisation aufgehoben; die Ursache ist die fehlende Wirkung des Albuminteiles, die Globulinfunktion dagegen wird gebunden.

Das Optimum liegt bei p_H etwa 7,5 bis 7,7.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag.]

Choleragift und antitoxische Zellwirkungen.Von Oberstabsarzt Professor Dr. **Oskar Bail.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. März 1916.)

Die Frage nach der Natur des Choleragiftes und, daraus unmittelbar abgeleitet, Versuche zur Herstellung eines antitoxischen Serums haben bereits viele Forscher beschäftigt. Die Berechtigung dieser Untersuchungen ergibt sich aus der bloßen Beobachtung des menschlichen Choleraanfalls, welche keinen Zweifel über die Anwesenheit eines starken Giftes aufkommen läßt. Ob dasselbe als streng an die Vibrionenleiber gebunden zu betrachten sei, oder ob daneben auch eine wirkliche Ausscheidung von Gift beim Lebensprozesse der Vibrionen erfolgt, ist noch strittig, und die ansehnliche Literatur über diesen Gegenstand findet sich mehrfach zusammengestellt. Tatsache ist jedenfalls, daß man jederzeit den Nachweis der Giftigkeit der Vibrionenleiber führen und aus solchen giftige Lösungen gewinnen kann, welche im Meerschweinchenversuche die gleichen Erscheinungen wie eine gesetzte Cholerainfektion hervorrufen. Wenn es andererseits ebenso sicher ist, daß man auch in Flüssigkeiten, welche zur Zucht von Vibrionen geeignet haben, gleiche Giftstoffe auffinden kann, so fällt die Entscheidung schwer, ob hier echte, ausgeschiedene Gifte oder auch nur Auslaugungen von Bakterienleibern vorliegen. Eine Entscheidung auf dem Wege der Immunisierung zu treffen, ist nicht gelungen. Denn wenn Kraus und seine Schüler ohne Zweifel mit Kulturgiften Antitoxine hergestellt haben, so ist doch auch mit Vibrionenauszügen ein gewisser Grad von antitoxischer Serumwirkung zu erreichen gewesen (Mac Fadyan, Hahn, Carrière und Tomarkin), und alle diese Seren muß man als recht schwach bezeichnen, sie können mit echt antitoxischen Seren, wie sie von Tetanus- oder Diphtheriegiften geliefert werden, den Vergleich nicht aushalten. So ergeben alle diese Versuche nur die Tatsache, daß gegen die Giftstoffe des Choleravibrio, mögen sie nun

reine Endotoxine sein oder den echten Toxinen sich nähern, eine Immunität aktiv wie passiv nur sehr schwer und unvollkommen zu erreichen ist.

Dem steht die außerordentliche Leichtigkeit gegenüber, mit welcher alle diese „Gifte“, ähnlich wie Vibrionenleiber selbst, zur Bildung von Agglutininen, Bakteriolysinen usw. Veranlassung geben. Daß aber diesen eine Wirkung gegen die Choleravergiftung nicht zukommt, darüber sind alle Untersucher seit Pfeiffers grundlegenden Arbeiten einig. Nur für große Mengen hochwertiger derartiger Seren scheint auch eine gewisse Gegengiftwirkung vorhanden zu sein, von der es aber fraglich ist, ob sie als wirklich antitoxisch anzusehen ist. Pfeiffer und Bessau nehmen an, daß derartige Seren gewissermaßen verdauend, abbauend auf die Endotoxine wirken und sie so zerstören¹⁾. Eine andere Erklärungsmöglichkeit bietet sich, wenn man berücksichtigt, daß die Verbindung, welche die Cholerasubstanz (also auch das an diese gebundene Gift) mit den Serumgegenkörpern eingeht, in der Regel nur eine so lose ist, daß es einerseits zur Abspaltung von Gegenkörper, andererseits zu der von Vibrionensubstanz im Tierkörper kommt²⁾. Dadurch wird ohne weiteres verständlich, wieso das außerhalb des Tierkörpers so leicht zu erzielende Zusammentreten von Cholerasubstanz und Serumstoffen die Vergiftung durch erstere nicht zu verhindern vermag. Es wäre nun sehr wohl denkbar, daß sehr hochwertige Immunsere in großer Menge eine festere Verbindung mit der Cholerasubstanz eingehen, welche im Tierkörper nicht mehr gesprengt wird und die deshalb auch weniger giftig ist. Es unterliegt keinem Zweifel, daß Herstellung von Seren mit Gegenkörpern, die eine beständige Verbindung mit der giftigen Cholerasubstanz einzugehen vermögen, eines der Mittel darstellt, der Choleravergiftung Herr zu werden. Eigene Versuche haben in dieser Hinsicht bisher leider wenig Erfolg gehabt.

Nun gibt es aber im Tierversuche doch Verhältnisse, unter denen die an sich recht empfindlichen Meerschweinchen

1) Diese Anschauung vertrat bereits früher Friedberger, welcher (Med. Klinik, 1910, No. 13) den Abbau des Anaphylatoxins zur Ungiftigkeit auf einen Ueberschuß an Präzipitin und Komplement zurückführte. (Vgl. auch dessen Ausführungen in Fortschritte der deutschen Klinik, Bd. 2, p. 660/1.)

2) Diese Zeitschrift, Bd. 24, Heft 4, p. 396.

der Choleravergiftung ausgesprochenen Widerstand zu leisten vermögen. Schon sehr lange war es von Untersuchungen über Cholerainfektion von der Bauchhöhle aus bekannt, wie jede Entzündung derselben mit Leukocytose Schutz gegen Infektion gewährt, und namentlich Pfeiffer war es wieder, der betonte, daß dieser Schutz sich nicht nur gegen Infektion, sondern auch gegen Vergiftung richte. Damit stimmt die jederzeit zu machende Erfahrung überein, daß man den Grad der Infektion wie den der Vergiftung (z. B. bei Anwendung großer Mengen von Vibrionen mit hinreichenden Mengen von Immunserum) am Leukocytengehalte der Bauchhöhlenflüssigkeit beurteilen kann.

Hier setzten mehrere wichtige Arbeiten von Pettersson¹⁾, ausgeführt mit Typhusbacillen und Metschnikoffvibrionen, ein. Er zeigte, daß Leukocyten (von Kaninchen und Meerschweinchen), gleichzeitig mit Immunserum und teilweise riesigen Mengen von Bakterien in die Bauchhöhle eingespritzt, die sonst in den Kontrollen unausbleibliche Vergiftung aufzuheben imstande waren. Pettersson arbeitete nur mit Bakterien selbst und wurde dadurch zu der Anschauung geführt, daß es vorwiegend die unter dem Einflusse des Immunserums sehr lebhaft Phagocytose sei, welche den Giftübergang aus dem Bakterienleib zu den empfindlichen Zellen des Körpers verhindere oder doch verzögere. Beweise für die Richtigkeit dieser Anschauung bot die weitere Beobachtung, daß durch Gefrieren abgetötete Zellen oder Auszüge aus ihnen wirkungslos waren.

Eigene Versuche, mit dem früher benutzten galizischen Cholerastamme angestellt, konnten die von Pettersson ganz bestätigen.

M. 49, 50 und 51 erhielten eine lebende Cholerakultur ip., nach $\frac{1}{4}$ Stunde je 0,1 ccm bakterizides Immunserum (Wien, Serotherapeutisches Institut). Wieder $\frac{1}{4}$ Stunde später erhielt M. 49 2 ccm zellfrei zentrifugierter Exsudatflüssigkeit eines vorher mit Bouillon ip. vorbehandelten Meerschweinchens, M. 50 die Leukocyten dieses Exsudates in 2 ccm Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt und M. 51 eine entsprechende Aufschwemmung der zerriebenen Leber des gleichen Tieres. M. 49 und 51 starben nach etwa 5 Stunden, M. 50 wurde zwar merkbar krank, erholte sich aber vollständig.

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, p. 537; Bd. 42, p. 56; Bd. 50, p. 634.

Der beträchtliche Schutz, den nicht beliebige Körperzellen, sondern nur weiße Blutkörperchen verleihen, tritt bei dieser schweren Vergiftung deutlich hervor.

Versuche mit teils durch Gefrieren, teils durch $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf $56-60^{\circ}$ abgetöteten Zellen hatten wechselnde Ergebnisse.

Die Meerschweinchen 68, 69, 70 und 71 erhielten zunächst je $\frac{1}{2}$ Kultur Cholera. nach $\frac{1}{2}$ Stunde 0,1 ccm Wiener Immunserum ip. Wieder $\frac{1}{2}$ Stunde danach erhielt No. 68 lebende Leukocyten eines mit Bouillon vorbehandelten Meerschweinchens (von 7 ccm Exsudat, in 2 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt); es überlebte. Ebenso überlebte No. 69, welches die gleiche Menge Leukocyten nach 3-maligem Einfrieren derselben erhalten hatte, während No. 70, bei dem die Zellen durch $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf 56° abgetötet waren, in der Nacht starb; das Bauchhöhlenexsudat enthielt keine Vibrionen, mäßig viele Leukocyten. Das Kontrolltier 71, welches nur 2 ccm Exsudatflüssigkeit ohne Zellen erhalten hatte, starb nach 36 bis 42 Stunden mit steriler, eitriger Bauchhöhle.

In einem weiteren Versuche, der auf ganz gleiche Weise angestellt war, überlebte ebenfalls das mit lebenden und gefrorenen Zellen behandelte Tier, in einem dritten nur das mit lebenden Zellen, in einem vierten starben alle Tiere, wobei nur das mit lebenden Zellen eine gewisse Widerstandskraft aufwies.

Es war klar, daß gewisse grundsätzliche Fragen der Choleravergiftung sich nicht mit einem beliebigen Cholera-stamm lösen lassen. Die Verhältnisse liegen offenbar ähnlich, wie etwa bei Versuchen mit Diphtheriebacillen, von denen zwar jeder Stamm im Menschen durch Vergiftung schädlich wirkt, wo aber nur sehr wenige Stämme so viel Gift liefern, daß sie mit Aussicht auf Erfolg zu Versuchen benutzt werden können. Vgl. dazu die ausgedehnten Versuche von Kraus und seinen Schülern. Auch schien es vorteilhaft, in der Folge nicht mit den immerhin schwer zu handhabenden lebenden Vibrionen, sondern mit künstlich hergestellten Giftlösungen arbeiten zu können.

Viel benützt wurde bereits, z. B. von Carrière und Tomarkin, der mit No. 74 bezeichnete Cholerastamm, eigene Versuche wurden durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Kollegen Pribram in Wien ermöglicht, der die stark giftige Cholera „Kadikjöji“ zur Verfügung stellte.

Die Vibrionen töteten Meerschweinchen nach einigen Tierdurchgängen mit wahrscheinlich viel weniger als $\frac{1}{2}$ Oese. Bei gleichzeitiger Anwendung

von Immunserum (es wurde ausnahmslos das Serum des Wiener Serotherapeutischen Institutes verwendet), dem der Stamm unter stärkster Bakteriolyse rasch erliegt, stellte etwa $\frac{1}{4}$ Agarkultur diejenige Menge vor, bei welcher steriler Vergiftungstod recht regelmäßig eintrat. Es stellte sich sofort heraus, daß Meerschweinchenleukocyten auch gegen viel schwerere Vergiftungen ausreichend Schutz verleihen.

No. 99 und 100 erhielten je $\frac{1}{4}$, 101 und 102 je $\frac{3}{4}$ Kultur ip. Nach 10 Minuten erhielten 99 und 101 je 2 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit mit 0,075 ccm Immunserum. Schon $\frac{1}{2}$ Stunde später war die Bakteriolyse vollständig, aber beide Tiere starben am Nachmittage des gleichen Tages mit steriler, fast zellfreier Bauchhöhle. 100 und 102, welche gleichzeitig mit Immunserum je 0,9 g Leukocyten (feucht gewogen) erhielten, zeigten ebenfalls rasche Bakteriolyse; es starb No. 102, während 100 dauernd überlebte.

Aber auch mit diesem Stamm ließ sich die Frage des Schutzwertes abgetöteter Zellen nicht einwandfrei lösen. Von den Tieren 103, 104, 105, welche nach $\frac{1}{4}$ Kultur normale, gefrorene und erhitzte Zellen mit Immunserum erhielten, starb keines, von den Tieren 107, 108, 109, welche nach $\frac{1}{2}$ Kultur die gleichen Einspritzungen erhielten, starb nur das Tier mit gefrorenen Leukocyten.

Für Gewinnung von Giftlösungen aus Vibrionen sind eine ganze Reihe von Methoden angegeben worden. Abgesehen von mehrtägigem Wachstum in Bouillon von bestimmter Alkalität (Kraus), kommt hauptsächlich die Methode von Macfadyan (Zerreiben der Vibrionen mit flüssiger Luft, Auslaugen mit Alkali), sowie die des Ausziehens mit Wasser im Schüttelapparate in Betracht. In den nachstehenden Versuchen wurde eine auf früheren Erfahrungen beruhende Giftgewinnungsmethode angewendet, welche die Auslaugung der Vibrionen bei mäßig erhöhter Temperatur herbeiführt.

Die Methode ist erst nach und nach weiter ausgebildet worden, so daß die ersten Versuche mit verschiedenen starken Giften angestellt sind. Nach der folgenden Weise läßt sich aus der Cholera „Kadikjöji“ regelmäßig ein Gift von recht beständiger Wirkungsweise gewinnen. Gut bewachsene Kolleschalen (etwa 15 Stunden alt) werden mit je 6 ccm sterilem destillierten Wasser abgespült, die sehr dichte Aufschwemmung in Eproutetten gebracht und in einem gut regulierten Wasserbade durch etwa 8–10 Stunden bei 43–44°, jedenfalls nicht über 45° gehalten. Dabei beobachtet man ein verhältnismäßig sehr rasches Absetzen der Vibrionen, so daß sich die anfangs dicht-milchige Aufschwemmung schon nach 6 bis 8 Stunden in eine obenstehende, wenig trübe, gelbe Flüssigkeit und den unten abgelagerten, grauweißen Satz gesondert hat. Die nicht geschüttelten Gefäße werden sodann über Nacht kalt auf Eis gehalten und sodann zentrifugiert, was keine Schwierigkeiten mehr macht. Die Zahl der überlebenden

Vibrionen in der Giftlösung ist dann gering, während im Satze jedenfalls ein sehr großer Teil nicht abgetötet ist. Man kann wenige Tropfen Toluol zusetzen, doch wurde vielfach nur eine Aufbewahrung in der Kälte durchgeführt, da bei den Versuchen fast immer Immunserum in geringen Mengen mitgegeben wurde und dabei eine Vibrionenvermehrung im Tiere nie aufkam. Richtig hergestellte Giftlösungen töten regelmäßig in der Menge von 0,25–0,35 ccm Meerschweinchen von etwa 200 g Gewicht in weniger als 24 Stunden bei intraperitonealer Einspritzung, welche allein angewendet wurde. Gifte, die älter als 14 Tage waren, wurden nicht verwendet, innerhalb dieser Zeit trat keine merkliche Abschwächung ein. Daß bei den Anfangsversuchen oft Gifte mit wesentlich geringerer Wertigkeit erhalten wurden, lag daran, daß bei ihrer Gewinnung Temperaturen von 48–50° verwendet wurden, was unbedingt vermieden werden muß. Der Giftstoff ist offenbar auch innerhalb des Vibrionenleibes gegen Wärme von über 44° sehr empfindlich. Die Erscheinungen nach Gifteinspritzung sind im wesentlichen die der Cholerainfektion, beim toten Tiere findet man in der Regel ein an Leukocyten sehr armes Exsudat, das oft Endothelien enthält. Nur bei längerer Lebensdauer wird dasselbe mehr oder weniger eitrig.

Es ließ sich sofort zeigen, daß auch solche Giftlösungen durch normale Leukocyten unwirksam werden.

Das zuerst hergestellte Gift I hatte nur sehr geringen Wert, indem es mit 1 ccm noch nicht, hingegen mit 2 ccm über Nacht Meerschweinchen zu töten vermochte. No. 112 erhielt 2,3 ccm dieses Giftes, dem unmittelbar vor der Einspritzung 0,002 ccm Wiener Immunserum zugesetzt wurde. Das Tier starb nach etwa 5 Stunden mit reichlichem, zell- und vibrionenfreiem Exsudat in der Bauchhöhle. No. 113 erhielt die gleiche Einspritzung mit etwa 1 g frischen Meerschweinchenleukocyten und überlebte ohne irgend ernstliche Krankheit.

Ohne Zweifel wird somit auch gelöstes Choleragift durch Zellen unwirksam, und es fällt schwer, hier einfache Phagocytose als Ursache der Beeinflussung anzunehmen. Es zeigte sich sofort, daß man die Leukocyten, sobald sie einmal bei 37° auf die Giftlösung eingewirkt haben, durch Zentrifugieren entfernen kann.

Zu dem Versuche wird eine Giftlösung verwendet, deren tödliche Gabe bei etwa 0,75 ccm lag. No. 122 erhielt davon 1,3 ccm, welche mit etwa 0,4 g in zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmten Leukocyten $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt worden waren. Alles wurde nach Zusatz von 0,002 ccm Wiener Immunserum eingespritzt, das Tier zeigte keine besonderen Krankheitserscheinungen. Das gleiche war der Fall bei No. 123, welches dieselbe Gift-Zellaufschwemmung erhielt, aus der aber die Zellen nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung bei 37° abzentrifugiert waren. No. 124 hatte Leberzellen eines normalen Meerschweinchens in der ungefähren Menge von 0,7 g, die in zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt und mit

17*

1,3 ccm Gift $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt waren, erhalten und starb in der Nacht, ebenso wie das Kontrolltier 125, welches nur zellfreie Exsudatflüssigkeit mit 1,3 ccm Gift erhalten hatte.

Bei der Behandlung von Zellen mit Choleragift bei 37° fällt sofort die schon nach kurzer Zeit einsetzende starke Zusammenballung der Leukocyten auf, die bei Leberzellen nicht zu bemerken war. Rote Blutkörperchen, die in geringer Menge den Leukocyten des Exsudates beigemischt waren, wurden bei 37° sehr rasch aufgelöst.

Die Tatsache, daß normale Meerschweinchenleukocyten schon außerhalb des Körpers imstande sind, Gift unwirksam zu machen, bot nun die Möglichkeit, in sehr bequemer Weise festzustellen, inwieweit diese antitoxische Wirkung durch Eingriffe, welche das Leben der Zelle zerstören, beeinflußt wird.

Ein mit Bouillon vorbehandeltes Meerschweinchen lieferte etwa 1,6 g feuchte Leukocyten, die in 3 Teile geteilt, in je 2 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt wurden. Ein Teil blieb unverändert bei Zimmertemperatur stehen, ein anderer wurde 3mal eingefroren und bei 37° wieder aufgetaut, ein dritter wurde 20 Minuten lang auf 58° erwärmt. Jeder Probe wurde sodann 1,25 ccm Gift zugesetzt, die Mischungen bei 37° im Wasserbade $\frac{1}{2}$ Stunde gehalten, die Zellen abzentrifugiert und die klaren Flüssigkeiten sofort nach Zusatz von je 0,002 ccm Immunsérum den 3 Meerschweinchen 126—128 eingespritzt. Alle Tiere blieben ohne besondere Krankheit am Leben, während das Kontrolltier 130, das nur die Mischung von zellfreier Exsudatflüssigkeit und Gift erhalten hatte, unter den schwersten Vergiftungserscheinungen erkrankte und in der Nacht erlag.

Zu dem Versuche gehört noch das Tier No. 129, für welches statt Leukocyten die ganze fein zerriebene Milz zur Giftbindung verwendet worden war. Die Einspritzung des Zentrifugates machte das Tier schwer, anscheinend hoffnungslos krank, doch erholte es sich schließlich.

Diesem Versuche nach wirken also Leukocyten, gleichgültig ob sie lebend oder durch Gefrieren oder Erhitzen abgetötet wurden, immer auf das Choleragift zerstörend ein. Der Widerspruch, der damit gegenüber den Versuchsergebnissen Petterssons gegeben war, klärte sich aber, wenigstens für die erhitzten Zellen auf, sobald Versuche über die geringste Menge, in welcher Leukocyten Gift unwirksam machen, angestellt wurden. Dabei zeigte sich, daß die Leukocytenmenge, welche zur Beseitigung der wenig mehr als tödlichen Giftgabe notwendig ist, sehr gering sein kann. Es ist aber wohl zu bemerken, daß die erhaltenen Zahlen nicht ganz

gleichmäßige waren, offenbar deshalb, weil auch die Zellen der verwendeten Meerschweinchenexsudate nicht gleichmäßig sind. Erfahrungsgemäß bieten ja Präparate aus sterilen Bauchhöhlenexsudaten des Meerschweinchens keineswegs ein gleichmäßiges Bild. Ueberwiegend sind darin polynukleäre Leukocyten vertreten, aber je nach dem Tiere und namentlich nach der Zeit, zu welcher dasselbe verblutet wurde, mischen sich mehr oder minder reichlich andere Zellen, insbesondere große plasmareiche, ein und vielkernige Zellen bei.

Die Exsudate wurden für die Versuche ausnahmslos durch Einspritzung von viel (40—50 ccm) Bouillon an Meerschweinchen von 500 g Gewicht und darüber erzeugt. Wurden die Tiere etwa 15 Stunden später verblutet, so überwogen stets verhältnismäßig kleine polynukleäre Leukocyten; aber schon wenige Stunden später, etwa nach 20—24 Stunden, treten größere Zellen auf, bei manchen Tieren ist dies schon früher der Fall, und es hat den Anschein, als ob solche Exsudate viel stärker giftbindend wirken würden. Planmäßige Versuche konnten über dieses Verhalten, welches wohl auch für andere Untersuchungen mit Leukocyten Bedeutung haben dürfte, noch nicht angestellt werden. Jedenfalls aber läßt sich aus diesem Grunde keine kleinste Zellmenge angeben, die für alle Tiere eine bestimmte Giftmenge unwirksam macht; die Angaben haben stets nur für die Zellen eines Tieres genaue, für die anderer Tiere höchstens orientierende Bedeutung.

Ein mit Bouillon vorbehandeltes, nach 16 Stunden verblutetes Meerschweinchen lieferte 0,7 g Leukocyten, welche, in 1,6 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt und zu 0,4 und 1,2 ccm verteilt, mit 1,2 ccm von Gift IV, welches in weniger als 0,8 ccm für Meerschweinchen innerhalb 24 Stunden tödlich ist, versetzt, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten und zentrifugiert wurden. No. 137 und 138, welche die Zentrifugate erhalten hatten, bleiben am Leben, No. 140, das die gleiche, aber nicht mit Zellen behandelte Mischung erhalten hatte, stirbt nach etwa 8 Stunden, ebenso wie No. 139, welches die gleiche Mischung nach Behandlung mit fein zerriebener Milz des Bouillon-Meerschweinchens erhalten hatte.

Die Menge von etwa 0,175 g feuchter Zellen war also bereits zur Beseitigung einer weit übertödlichen Giftmenge ausreichend. Die Milz hatte gegen diese nichts ausrichten können, obwohl sie der Menge nach viel reichlicher zur Verwendung kam.

0,8 g Leukocyten wurden in 4 cem zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt, in 2 Teile geteilt und ein Teil $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erhitzt; makroskopisch tritt dabei keine besondere Veränderung der Aufschwemmung ein, wenn man die Vorsicht anwendet, durch wiederholtes sanftes Schütteln während des Erwärmens die Zellen gleichmäßig verteilt zu halten. Hierauf wurden folgende Proben angesetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade von 37° gehalten:

1)	0,25 Zellaufschwemmung	+	0,75 Exsudatflüssigkeit	+	0,8 cem Gift VI
2)	0,25	„	+	0,75	„ „ „
3)	0,5	„	+	0,5	„ „ „
4)	1,0	„	+	0	„ „ „

Ebenso die Proben 1a—4a mit den auf 58° erwärmten Zellen. Bei der Beobachtung zeigte sich, daß die normal gelassenen Zellen durch das Gift VI, welches in der Menge von 0,8 cem in weniger als 24 Stunden tötete, schnell und stark zu Haufen geballt wurden, was bei den erhitzten Zellen nicht der Fall war. Die Tiere 219—222, welche die Zentrifugate von 1—4 erhielten, blieben ohne besondere Krankheitserscheinungen, die anderen, 223—226, mit den Zentrifugaten 1a—4a starben sämtlich innerhalb 30 Stunden, ebenso wie ein Kontrolltier, welches die Giftmischung ohne Zellbehandlung erhalten hatte.

Der Versuch gibt zunächst Aufschluß darüber, daß die Abtötung der Leukocyten durch Erhitzen zu einer Abschwächung ihrer giftwidrigen Wirkung führt; sie geht nicht vollständig verloren, wie dies die früheren Versuche dargetan haben und wie dies auch der Versuch mit No. 219—227 zeigt: denn das Tier, welches das Zentrifugat 4a erhalten hatte, also jenes, welches mit den meisten erwärmten Zellen behandelt war, lebte allein 30 Stunden und hatte überdies außer einer ansehnlichen Zahl von Leukocyten noch Diplokokken im Bauchhöhlenexsudate; alle anderen waren steril in der Nacht des Versuchstages zugrunde gegangen. In der Hauptsache ist also die Beobachtung von Pettersson richtig, und nur die verhältnismäßig schwierige Versuchsanordnung, die ihm zu Gebote stand, bildete die Ursache, daß er den Rest der nach Zellabtötung übrigbleibenden Schutzwirkung übersehen mußte.

Um welche Wirkung der Leukocyten es sich bei der Choleragiftbeseitigung handelt, ist natürlich sehr schwer zu sagen. Nahe liegt die Vermutung, daß das Verschwinden der Giftwirkung einfach auf eine Absorption der gelösten Bakterienstoffe zurückzuführen, also ein wesentlich physikalischer Vorgang sei. Dieser Annahme widerspricht die Feststellung, daß

hauptsächlich nur Leukocyten, nicht aber andere, feinverteilte Körperzellen diese Wirkung zeigen, nicht vollkommen. Die darüber angestellten Versuche wurden meist in Verbindung mit anderen Versuchen (um an dem sehr beschränkten Tiervorrat zu sparen) durchgeführt und zwar in der Weise, daß stets das Tier, welches die Leukocyten lieferte, auch die anderen Organe hergab. Dabei zeigte sich, daß rote Blutkörperchen, Leber, Niere, Hirn, Sperma ganz ohne Wirkung waren, während Milz und Knochenmark eine solche mehrfach unzweideutig erkennen ließen, was wegen des Zellgehaltes dieser Organe um so weniger verwundern kann, als besonders bei Verwendung eben tödlicher Mengen schwacher Gifte, bereits sehr geringe Leukocytenmengen Schutz gewähren. Auf diese muß man auch bei Versuchen mit roten Blutkörperchen achten, besonders wenn man dazu Zitratblut verwendet. Beim Zentrifugieren eines solchen gelingt die Abscheidung der Blutleukocyten verhältnismäßig sehr gut, da sie sich beim Zentrifugieren in einer Schicht ansammeln, welche deutlich schützt, während die darunterliegende, fast leukocytenfreie ganz unwirksam ist; mit Rücksicht auf später zu erwähnende Reagen-glasversuche über die blutkörperchenlösende Wirkung der verwendeten Gifte verdienten diese Untersuchungen größere Ausführlichkeit. Die Wirkungslosigkeit der Hirnzellen weist wieder darauf hin, daß für die etwaige Absorption des Cholera-giftes ganz andere Umstände als für die des Tetanusgiftes maßgebend sein müssen ¹⁾.

Eine vollkommene Widerlegung würde die Annahme einer einfachen Giftabsorption erfahren, wenn es gelänge, aus den Zellen Stoffe mit giftwidriger Wirkung auszuziehen: Leukocytenauszüge würden dann die natürlichen Antitoxine des Choleragiftes darstellen. Wie bereits erwähnt, fand Pettersson bereits solche Auszüge als unwirksam, eigene Versuche führten nicht zur vollkommenen Sicherheit. Im wesentlichen wurden dabei die bisher von den meisten Forschern auf diesem Gebiete verwendeten Methoden des Einfrierens und des Erwärmens der Zellen in verschiedenen Flüssigkeiten angewendet.

1) Ähnlich wie umgekehrt Tetanusgift durch Leukocyten nicht merkbar beeinträchtigt wird (Pettersson).

0,9 g Leukocyten werden in 2 Teilen, 1) mit Kochsalzlösung, 2) mit zellfreier Exsudatflüssigkeit gewaschen und sodann mit 2 ccm destilliertem Wasser und ebensoviel Exsudatflüssigkeit $\frac{1}{2}$ Stunde bei 58° erwärmt. Dann wurde Flüssigkeit und Zellrückstand durch scharfes Zentrifugieren getrennt, die letzteren einmal mit 10 ccm destilliertem Wasser, beziehungsweise Exsudatflüssigkeit gewaschen und beide Rückstände in je 2 ccm Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt. Zu den klaren Extrakten, wie zu den Zellrückständen 1 und 2 wurden sodann 0,8 ccm Gift V zugesetzt, die Proben $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade bei 37° gehalten und zentrifugiert. Eine Probe mit 2 ccm destilliertem Wasser und 0,8 ccm Gift, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° , diente als Kontrolle. Das damit geimpfte Tier 176 starb nach 9 Stunden, noch früher, nach 7 Stunden erlag No. 172, welches Gift mit wäßrigem Zellauszug erhalten hatte, No. 175 mit dem Exsudatflüssigkeitsauszug und die beiden Tiere mit den Zellrückständen blieben am Leben.

0,3 g Leukocyten wurden mit 2 ccm aktivem Meerschweinchenserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 57° ausgezogen und hierauf scharf zentrifugiert. Zum Auszuge, wie zu dem wieder in 2 ccm erwärmtem Serum aufgeschwemmten Zellsätze wurden je 0,9 ccm Gift zugesetzt; nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Verweilen im Wasserbade wurde zentrifugiert. Im gleichen Versuche wurde auch die ganze Milz und das Knochenmark der beiden Oberarmknochen, der Ober- und teilweise der Unterschenkel des zellliefernden Tieres in etwas NaCl-Lösung verrieben, zentrifugiert und der Zellsatz mit 0,9 ccm Gift V bei 37° gehalten, dann zentrifugiert. Die Tiere, welche das Zentrifugat von den bereits ausgezogenen Zellen, von Knochenmark und Milz erhalten hatten, überlebten, das letztere nach schwerer Krankheit, das Tier 177 mit dem Serumauszuge starb nach 11, das Kontrolltier nach 9 Stunden.

1,1 g Leukocyten werden in 2 Teilen mit Kochsalzlösung und zellfreier Exsudatflüssigkeit gewaschen, dann a) in 1,5 ccm Kochsalzlösung, b) ebensoviel Exsudatflüssigkeit 3mal eingefroren, bei 37° wieder aufgetaut und scharf zentrifugiert. Die Zellsätze wurden in je 1,5 ccm NaCl-Lösung, beziehungsweise Exsudatflüssigkeit verteilt und zu ihnen, wie zu den entsprechenden Auszügen, je 0,9 ccm Gift VI (unter 0,8 ccm tödlich) zugefügt. Den gleichen Zusatz erhalten überdies 0,85 g feinerriebene Nierenzellen, in 1,5 ccm Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt. Nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalt der Proben im Wasserbade von 37° wurde zentrifugiert und die überstehenden Flüssigkeiten zur Einspritzung verwendet. Zum Versuche gehören 2 Kontrollen, bei denen 0,9 ccm Gift zu 1,5 ccm NaCl-Lösung und ebensoviel Exsudatflüssigkeit zugesetzt und nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° verwendet wurde. Die beiden Kontrolltiere, sowie das Tier mit dem Gifte nach Nierenbehandlung starben in der Nacht des Versuchstages. Die beiden Tiere mit dem Kochsalzauszuge und dem Zellrückstände davon überlebten, die beiden, welche Auszug mit Exsudatflüssigkeit und den Zellrückstand davon erhalten hatten, überlebten zunächst, zeigten aber am nächsten Tage Unterhautödem und Sekundärinfektion mit kurzen Stäbchen, der das eine Tier erlag, während das andere sich erholte, aber marastisch blieb.

1 g Leukozyten wird in 3 Teile geteilt, die gleichen Zellsätze mit je 1,5 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgenommen und a) bei Zimmertemperatur belassen, b) 3mal gefroren und bei 37° wieder aufgetaut, c) $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Danach werden alle Zellsätze abzentrifugiert und die obenstehenden Flüssigkeiten, wie die (nicht gewaschenen) Zellsätze mit je 1 ccm Gift VI $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten. Dabei tritt stärkste Agglutination der normalen, schwache der gefrorenen, keine der erhitzten Leukocyten ein. Nach Entfernung der Zellen werden alle Flüssigkeiten den Tieren 196—201 eingespritzt. Ohne jede Krankheit blieben die Tiere, welche die mit den Zellsätzen behandelten Gifte erhalten hatten, das Tier 196 mit dem Auszuge a (also wesentlich nur Exsudatflüssigkeit) starb nach 9 Stunden, die anderen mit den Auszügen b und c starben nach 2 und 3 Tagen, stark abgemagert, beide mit eitriger, keimfreier Bauchhöhle.

Ueber 0,5 g Leukocyten wurden mit 2 ccm aktivem, frischem Pferdeserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 45° gehalten, wobei stärkste Agglutination eintrat. Nach Zentrifugieren ergab sich der Auszug und der Zellrückstand, zu denen je 1 ccm Gift IX zugesetzt wurde. (Der Zellrückstand war in 2 ccm Pferdeserum welches ohne Zellen bei 45° gehalten war, aufgeschwemmt.) Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte im Wasserbade von 36° wurde zentrifugiert und die klaren Flüssigkeiten dem Tiere 275 (Auszug) und 276 (Zellrückstand) eingespritzt: ersteres starb in der Nacht des Versuchstages, letzteres blieb munter. Das Kontrolltier 277, welches 1 ccm Gift IX mit 2 ccm vorher auf 45° erwärmten Pferdeserum erhalten hatte, sowie 279, welches mit 1 ccm Gift und 2 ccm NaCl-Lösung geimpft waren, starben ebenfalls in der Nacht. Zum Versuche gehörte noch ein Tier, No. 278, das 1 ccm Gift IX erhielt, welcher mit dem in 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmten Satze von 2 ccm roten Meerschweinchenblutkörperchen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt worden war; dabei war nahezu vollständige Hämolyse eingetreten. Das Tier hatte das gleiche Schicksal wie die Kontrollen.

Es ist aus den angeführten Versuchen ohne weiteres ersichtlich, daß der Erfolg eines Auszuges der giftbindenden Leukocytenstoffe mindestens ein sehr unsicherer ist. Im allgemeinen scheinen die giftbindenden Eigenschaften streng an die unversehrte, womöglich lebende Zelle gebunden zu sein. Andererseits ist ein gewisser Erfolg in einzelnen Fällen nicht zu verkennen, aber er ist gering und läßt nur die Hoffnung übrig, daß es vielleicht bei besseren Ausziehungsmethoden gelingen könne, die antitoxischen Zellstoffe von den Zellen selbst abzutrennen und in Lösung zu bringen.

Nicht ganz leicht war es auch, die Gesetzmäßigkeit des Vielfachen für die Zellwirkung zu erweisen. Schon der Versuch mit den Tieren 137—140 zeigt, daß bereits recht

kleine Mengen von Leukocyten Schutz gegen Gift verleihen können.

1,6 g Leukocyten wurden in zellfreier Exsudatflüssigkeit aufgeschwemmt und daraus folgende Mischungen hergestellt:

1) 0,2 g Leukocyten in 1,2 Exsudatflüssigkeit	+ 1,2 Gift
2) 0,2 " " " 1,2 " "	+ 2,4 "
3) 0,2 " " " 1,2 " "	+ 3,6 "
4) 0,4 " " " 1,2 " "	+ 2,4 "
5) 0,6 " " " 1,2 " "	+ 3,6 "

Der Abguß 1 wurde ganz injiziert, von den Abgüssen 2 und 4 je 1,85 ccm, von den Abgüssen 3 und 5 je 1,65 ccm. Die Proben blieben (unter starker Zellzusammenballung) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, wurden zentrifugiert und die klaren Abgüsse mit je 0,002 ccm Immunserum eingespritzt. Die Tiere 142, 143 mit den Abgüssen von 1 und 2, sowie 145 und 146 mit den Abgüssen von 4 und 5 blieben am Leben; No. 144 mit dem Abgüsse von 3 starb nach 22 Stunden, ein Kontrolltier, das nur 1,2 ccm reines Gift erhalten hatte, starb nach weniger als 16 Stunden.

Das Gesetz des Vielfachen ist hier deutlich zu erkennen: die Menge von 0,2 g feuchter Leukocyten hatte wohl noch das Doppelte der als einfach angenommenen Giftmenge (tatsächlich ist von diesem Gift schon etwas weniger als 0,8 ccm tödlich) unschädlich gemacht, nicht mehr aber das Dreifache, während Verdreifachung der Zellmenge auch über das Dreifache der Giftmenge Herr wurde.

Der Versuch wurde mit dem gleichen Gifte wie der vorige und Zellen eines anderen Tieres in folgender Weise angesetzt:

1) 0,185 g Lyten + 1,2 ccm Gift	} $\frac{1}{2}$ Std. bei 37° klar zentrifugiert, vom Abgüsse 2 u. 3 je 1,5 ccm, der Abguß 1 ganz mit je 0,002 ccm Immunser. eingespritzt.
2) 0,185 " " + 6 " "	
3) 0,925 " " + 6 " "	

Das Tier 147 mit Abguß 1 überlebte, die Tiere 148, 149 mit den Abgüssen 2 und 3 starben etwas verspätet gegenüber dem Kontrolltier 151 und einem weiteren Tiere 150, welches 1,2 ccm mit Hirn behandelten Giftes erhalten hatte; diese beiden waren nach 6 und 7 Stunden erlegen.

Es hatte somit zwar die gegen die kleine Giftmenge ausreichende Zellmenge gegen eine Verfünffachung des Giftes nicht geschützt, aber auch die 5-fache Zellmenge war ziemlich wirkungslos geblieben.

In diesen und einigen anderen Versuchen war zwar ein Vielfaches von Gift mit den Zellen in Berührung gewesen, eingespritzt wurde aber von den Abgüssen nur so viel, wie der kleinsten, zum Versuche verwendeten Giftmenge entsprach;

in den weiter angestellten Versuchen wurde die Gesamtflüssigkeit injiziert.

Verschiedene Mengen von Gift VI (tödl. etwa 0,6 ccm) werden mit verschiedenen Zellmengen je $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt, die Abgüsse werden nach Zusatz von 0,002 ccm Immunserum unmittelbar eingespritzt.

- 1) 0,075 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 0,8 ccm Gift + 0,8 ccm NaCl. Das damit gespritzte Tier 209 zeigt keine besondere Krankheit, überlebt.
- 2) 0,15 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 0,8 ccm Gift + 0,8 ccm NaCl. Das Tier 210 überlebt ohne besondere Krankheit.
- 3) 0,3 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 0,8 ccm Gift + 0,8 ccm NaCl. Das Tier 211 überlebt ohne besondere Krankheit.
- 4) 0,075 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 1,2 ccm Gift + 0,4 ccm NaCl. Das Tier zeigt keine besondere Krankheit, wird aber hinfällig und stirbt nach 4 Tagen marastisch.
- 5) 0,15 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 1,2 ccm Gift + 0,4 ccm NaCl. Das Tier 213 verhält sich ähnlich wie 212, stirbt am 3. Tage marastisch.
- 6) 0,3 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 1,2 ccm Gift + 0,4 ccm NaCl. Das Tier 214 überlebt ohne besondere Krankheit.
- 7) 0,15 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 1,6 ccm Gift. Das Tier 215 starb in derselben Nacht.
- 8) 0,3 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 1,6 ccm Gift. Das Tier 216 überlebte ohne besondere Krankheit.
- 9) 0,6 g Lyten in 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 1,6 ccm Gift. Das Tier 217 zeigte zunächst keine besondere Krankheit, wurde aber marastisch und starb in der Nacht vom 4. zum 5. Tage.
- 10) 0,75 ccm zellfreier Exsudatflüssigkeit + 0,8 ccm Gift + 0,8 ccm NaCl als Kontrolle. Das Tier starb nach 7–8 Stunden.

Wenngleich nicht in allen Punkten gesetzmäßig verlaufen, z. B. darin, daß No. 216 dauernd überlebte, 217 trotz der doppelten angewendeten Zellmenge doch verspätet starb, läßt der Versuch doch das Gesetz des Vielfachen deutlich genug erkennen.

Zum Versuche dient das in weniger als 0,5 ccm tödliche Gift IX. Die Leukocyten wurden in der gewählten Versuchsmenge so zentrifugiert, daß sie unmittelbar im Gifte aufgeschwemmt wurden. Bei der $\frac{1}{2}$ -stündigen Einwirkung bei 37° fand stärkste Haufenbildung statt. Die Abgüsse wurden nach Zusatz von je 0,002 ccm Immunserum unmittelbar eingespritzt.

No. 280 erhielt den Abguß von 0,075 g Lyten + 1 ccm Gift + 2 ccm NaCl, überlebte.

No. 281 erhielt den Abguß von 0,075 g Lyten + 2 ccm Gift + 1 ccm NaCl, starb nach etwa 7 Std.

No. 282 erhielt den Abguß von 0,075 g Lyten + 3 ccm Gift, starb nach etwa 7 Std.

No. 283 erhielt den Abguß von 0,15 g Lyten + 1 ccm Gift + 2 ccm NaCl, überlebte.

No. 284 erhielt den Abguß von 0,15 g Lyten + 2 ccm Gift + 1 ccm NaCl, überlebte.

No. 285 erhielt den Abguß von 0,15 g Lyten + 3 ccm Gift, starb nach genau 24 Std.

No. 286 erhielt den Abguß von 0,3 g Lyten + 3 ccm Gift, starb in der gleichen Nacht.

No. 287, Kontrolle, erhielt 1 ccm Gift + 2 ccm NaCl, starb nach etwa 7 Std.

Wenngleich die höchste, mindestens 6-fache Giftmenge durch 0,3 g Leukocyten schließlich nicht mehr unschädlich gemacht werden konnte, tritt doch das Gesetz des Vielfachen bei diesen Versuchen so klar hervor, daß es für die giftwidrige Wirkung der weißen Blutzellen als gesichert angesehen werden kann.

Leicht läßt sich die Erschöpfbarkeit der giftwidrigen Zellwirkung durch eine vorangegangene Giftbehandlung zeigen.

1) 0,075, 2) 0,15, 3) 0,3 g Leukocyten, in je 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt, wurden mit je 1 ccm Gift IX versetzt, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten und zentrifugiert, ebenso wurden die Proben 4, 5, 6, aber nur mit je 2 ccm NaCl-Lösung behandelt. Die danach erhaltenen Zellrückstände wurden neuerlich mit je 1 ccm Gift IX + 1 ccm NaCl-Lösung behandelt und die nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° durch Zentrifugieren erhaltenen Abgüsse Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt. Die Tiere 269 und 270, welche die Abgüsse nach den 0,075 und 0,15 g erschöpften Leukocyten erhalten hatten, starben wie das Kontrolltier in der gleichen Nacht, alle anderen überlebten.

Wie die Tiere mit den Abgüssen 4—6 zeigen, hatten sowohl 0,075 als 0,15 und 0,3 g Zellen 1 ccm Gift unschädlich machen können. Nach dieser Leistung waren aber 0,075 und 0,15 g nicht mehr fähig, die Menge von nochmals 1 ccm Gift zu beseitigen, während 0,3 g Leukocyten dies noch zu leisten vermochten. Derartige Versuche lassen sich übrigens auch als Beweis für die Geltung des Gesetzes vom Vielfachen verwerten.

Welch große Giftmengen gelegentlich durch Leukocyten unwirksam gemacht werden können, zeigt der folgende Versuch.

Zur Verwendung kommt Gift X.

- 1) 0,25 g Lyten + 2,25 ccm NaCl + 0,75 ccm Gift X (für Tiere von 200 g mindestens 2 $\frac{1}{2}$ -fach tödlich)
- 2) 0,25 g Lyten + 1,5 ccm NaCl + 1,5 ccm Gift X
- 3) 0,25 " " + 0 " " + 3,0 " " "
- 4) 0,25 " " + 3,0 " " + 0 " " "

Nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Verweilen im Wasserbade von 37° werden die stark zusammengeballten Zellen (außer in 4) abzentrifugiert und die Zellsätze mit je 0,75 ccm Gift + 1,25 ccm NaCl neuerlich $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten. Nach nochmaligem Zentrifugieren wurden sowohl die 4 Abgüsse, als auch die ohne Waschung in je 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmten Zellrückstände an die Meerschweinchen 299–306 eingespritzt. Alle Tiere überlebten ohne besondere Krankheit.

In diesem Versuche hatten also 0,25 g der ganz besonders wirksamen Zellen, obwohl vorher mit der selbst reichlich 10-fachen Giftmenge behandelt, noch immer 0,75 ccm Gift unschädlich machen können. Von Bedeutung ist, daß die Zellsätze auch der Probe 3 keine Giftigkeit aufwiesen. Handelt es sich also bei der Leukocytenwirkung selbst nur um einfache Adsorption, so muß diese eine recht feste sein, die im Tierkörper kein Gift mehr frei werden läßt.

Daß (siehe auch frühere Versuche) die Leukocytenwirkung keineswegs immer die gleiche ist, beweist der folgende Versuch, der Erschöpfbarkeit und Multiplumgesetz sehr schön erkennen läßt.

1) 0,05, 2) 0,15 und 3) 0,25 g Leukocyten werden mit je 0,75 ccm Gift XII (etwa 5-fach tödlich) + 1,25 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt, dann zentrifugiert, was die Abgüsse 1–3 ergibt. Die Zellsätze werden hierauf neuerlich mit der gleichen Giftmenge $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt und zentrifugiert, was die Abgüsse 1a–3a liefert. Alle Abgüsse werden nach Zusatz von je 0,002 ccm Immunsrum intraperitoneal eingespritzt. Das Tier 328 mit Abguß 1 stirbt wie das Kontrolltier 334 nach 7–8 Stunden, die Tiere 329 und 330 mit den Abgüssen 2 und 3 überleben, Tier 331 mit Abguß 1a stirbt nach 7 Stunden, die Tiere 332 und 333 mit den Abgüssen 2a und 3a sterben verspätet nach etwa 20 Stunden.

Was die Art des Giftschatzes im Tierkörper betrifft, so ergab sich, daß am besten die gleichzeitige Einspritzung von Gift und Zellen vertragen wird. Solche Tiere bleiben bei hinreichender Zellmenge stets am Leben, ganz ähnlich wie bei vorheriger Einwirkung von Zellen auf Gift im Glase. Werden die Zellen $\frac{1}{2}$ Stunde früher eingespritzt, so ist der Schutz sehr in Frage gestellt, wohl deshalb, weil die Leuko-

cyten, obwohl der gleichen Tierart entstammend, in der Bauchhöhle sehr rasch zusammengeballt werden und sich in Klumpen am Netz oder sonstwo ablagern, schon $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Zellzufuhr kann die mittels Haarröhrchen aus der Bauchhöhle entnommene Flüssigkeit den weitaus größeren Teil der eingeführten Zellen verloren haben. Wartet man mit der Gifteinspritzung längere Zeit, so tritt wieder Schutz auf, der dann aber jedenfalls durch die eigenen, unter solchen Bedingungen sehr rasch einströmenden Leukocyten bedingt ist. Eine Heilwirkung läßt sich schon $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Gifteinführung durch große Zellmengen nicht erzielen.

Die mitgeteilten Versuchsergebnisse erklären die Tatsache des Schutzes, den eine mit Zellvermehrung einhergehende Entzündung der Bauchhöhle gegen Cholerainfektion, aber auch gegen Choleravergiftung gewährt, in befriedigender Weise. Ohne Zweifel ist es nicht die den Leukocyten eigentümliche Phagocytose allein, welche auch bei Anwendung lebender oder vorsichtig abgetöteter Vibrionen den Giftschutz herbeiführt; auch in diesem Falle muß die antitoxische Zellwirkung gegenüber dem allmählich frei werdenden Gifte zur Geltung kommen. Das Meerschweinchen entbehrt somit keineswegs eines natürlichen Schutzmittels gegen die Choleravergiftung, wie es auch in seinem Serum und seinen Leukocyten einen mächtigen natürlichen Infektionsschutz besitzt.

Auf Grund dieser Ermittlungen gelang es nun verhältnismäßig überraschend leicht, mit dem Gifte des *Vibrio Kadikjöji* aktive Immunität zu erreichen. Alle die zahlreichen Tiere, welche die Einspritzung von Gift und Leukocyten überlebt hatten, waren nach etwa 14 Tagen gegen die einfach tödliche Giftmenge und selbst ein geringes Vielfache derselben unempfindlich. Durch anfangs vorsichtige Weiterbehandlung ließ sich nicht nur erreichen, daß die Tiere selbst die bis 20-fache Giftmenge schadlos vertrugen, sie lieferten auch Seren, von denen die bisher besten mit 0,1 ccm und weniger die 2-fach tödliche Giftmenge unschädlich zu machen imstande waren. Dabei gehorchten dieselben vollkommen dem Gesetze des Vielfachen, so daß an dem Vorhandensein echter Antitoxine gegen die Extrakte des *Vibrio Kadikjöji* keinen Augenblick zu zweifeln ist. Ebenso erwiesen diese Seren ein aus-

gesprochen antihämolytisches Vermögen gegenüber der sehr starken Auflösung, welche die Gifte gegenüber Meerschweinchenblutkörperchen zeigen. Nur in der Beziehung sind die hergestellten Seren noch unvollkommen, daß sie zwar vollkommenen Schutz gegen die akute binnen höchstens 20 Stunden ablaufende Vergiftung gewähren, es aber nicht verhindern können, daß die geschützten Tiere in vielen Fällen nach 5 bis 7 und mehr Tagen marastisch zugrunde gehen; auch ist die Heilwirkung bisher eine sehr beschränkte. Von diesen noch zu behebenden Unvollkommenheiten aber abgesehen, läßt sich in theoretischer Hinsicht mit Sicherheit aussagen, daß in bezug auf die Immunität ein wesentlicher Unterschied zwischen Toxin und einem sogenannten Endotoxin nicht besteht. Von Interesse ist es, daß, so gut sich das Meerschweinchen zur Erzeugung von Antiendotoxinen eignet, das Kaninchen dazu nach den bisherigen Versuchen vollkommen ungeeignet ist. Auch durch sehr sorgfältige Behandlung hat sich kein Tier aktiv immunisieren lassen; nach kürzerer oder längerer Zeit trat regelmäßig tödlicher Marasmus ein.

Zusammenfassung.

Die Einspritzung von Meerschweinchenleukocyten verleiht normalen Meerschweinchen einen sehr bedeutenden Schutz gegen Vergiftung durch Vibrionen selbst (Pettersson), wie auch durch gelöste Vibrionenbestandteile.

Diese Schutzwirkung gehorcht dem Gesetze des Vielfachen.

Sie ist wesentlich an das Leben der Zelle gebunden und wird bedeutend abgeschwächt, sobald die Zellen, namentlich durch Erhitzen, abgetötet sind.

Ob sich Zellauszüge mit antitoxischen Wirkungen erhalten lassen, konnte nicht mit Sicherheit entschieden werden.

Es ist möglich, gegen geeignet hergestellte Choleraendotoxine echte Antitoxine nach Erzeugung hochgradiger aktiver Immunität beim Meerschweinchen herzustellen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem serologischen Laboratorium der Staatsirrenanstalt
Friedrichsberg in Hamburg (Direktor: Prof. Dr. W. Weygandt).]

Serologische Studien über die Vorgänge beim Ablauf des Dialyserversuches nach Abderhalden.

Von **V. Kafka.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. April 1916.)

I. Einleitung.

So groß die Menge der Veröffentlichungen ist, die sich mit der praktischen Verwendbarkeit des Dialysierverfahrens nach Abderhalden befassen, so gering ist die Anzahl jener, die auf Grund geeigneter Versuchsreihen in den Mechanismus dieser interessanten Reaktion einzudringen sich bemühen.

Abderhalden selbst betrachtet das Problem vor allem von der biochemischen Seite. Eine Reihe von gewichtigen Gründen hat ihn veranlaßt, den die Reaktion hervorrufenden Körpern oder Kräften die Natur von eiweißspaltenden Fermenten zuzusprechen, wobei aber Abderhalden immer betont, daß das letzte Wort über diesen Punkt noch nicht gesprochen ist. Er hat auch gefunden, daß der Reaktionskörper nach seiner Hitzeinaktivierung durch frisches Serum aktivierbar ist, drückt sich aber über die aus dieser Erscheinung zu ziehenden Folgerungen sehr vorsichtig aus, während Schneising, Stephan und Hauptmann geneigt sind, vor allem auf Grund ähnlicher, gelungener Reaktivierungsversuche, den weitergehenden Schluß ziehen, daß den die Abderhaldensche Reaktion hervorrufenden Körpern Ambozeptornatur zukomme, daß sie also zum Zustandekommen des biologischen Effekts auf das Vorhandensein von wirksamem Komplement angewiesen sind. Die eben genannten Forscher nehmen dabei natürlich an, daß die die Reaktion hervorrufenden Körper im Serum vorhanden sind und auf das vorgesetzte Organeiweiß, nicht aber auf das Serum-eiweiß selbst einwirken.

Im Gegensatz dazu glaubt eine Reihe anderer Forscher Veränderungen des Serumeiweißes als die Ursache der Reaktion nach Abderhalden ansehen zu sollen. So haben Friedemann und Schönfeld gefunden, daß man durch Hinzufügung von Stärke zum Meerschweinchenserum stärkere Ninhydrinreaktion des Dialysats erhält, als die Kontrollen ohne Stärke ergeben. Die Verfasser nahmen an, daß hier ähnlich, wie beim Anaphylatoxinversuch, aus dem Serum Eiweißspaltprodukte entstehen, ihre Bildung ließ sich auch in den besprochenen Versuchen durch Erhitzen auf 56°

verhindern. Da anzunehmen ist, daß die Ursache des Abbaues des Serumeiweißes in Adsorptionsvorgängen zu suchen ist, wiesen die Autoren darauf hin, daß ähnliche Vorgänge auch bei der Reaktion nach Abderhalden vorkommen könnten, zumal die gekochten Organe ja auch als Sitz von Adsorptionskräften angesehen werden müssen. In ähnlicher Weise versuchte F. Plaut, durch Zusatz von Kaolin und anderen anorganischen Stoffen zu Menschenserum eine positive Ninhydrinreaktion des Dialysats zu erhalten; das gelang ihm in einer Reihe von Fällen, während Berner bei ähnlicher Versuchsanordnung eine positive Ninhydrinreaktion nie erzielte. F. Plaut hat dann in jüngster Zeit die Möglichkeit der physikalisch-chemischen Einwirkungen des Substrats auf das Serumeiweiß noch in anderer Art zu erweisen ersucht, indem er in gewöhnlicher Weise zubereitete, aber nicht neuerlich gekochte Organstückchen mit Hammelblutkörperchen zusammenbrachte. Es trat Auflösung derselben ein, welche Erscheinung sich durch Auskochen der Organe stark herabsetzen, durch Digestion mit Serum aufheben ließ. Plaut sieht in diesem Phänomen eine physikalisch-chemische Einwirkung der Organstückchen auf die roten Blutkörperchen des Hammels. Wir werden im Verlaufe der Arbeit Gelegenheit haben, auf die Plautschen Versuche näher einzugehen. — Sachs und Nathan halten es für möglich, daß die bei der Abderhalden-Reaktion in Dialysat auftretenden Eiweißspaltprodukte durch einen der Anaphylatoxinbildung ähnlichen Vorgang aus dem Serumeiweiß entstehen. Ausführliche Versuchsreihen hat De Waele veröffentlicht. Auf Grund derselben nahm er an, daß die Quelle für die im Dialysat nachzuweisenden Eiweißspaltprodukte das Serum, und zwar dessen Globulinfraktion darstellt; auf nichtspezifische Weise durch anorganische Substanzen oder auf spezifische Weise durch korrespondierende Antigene wird der Lösungszustand der Serumglobuline, verändert und es erfolgt dann die Spaltung der Globuline durch das Antithrombin. In jüngster Zeit wurde von Jobling und Petersen die folgende Ansicht geäußert: es kommt im Verlauf der Abderhaldenschen Reaktion zuerst zu einer Adsorption des antitryptischen Ferments des Serums; so gelangen unspezifische, gegen das eigene Serumeiweiß gerichtete Proteasen zur Wirksamkeit, wobei das Komplement nicht beteiligt erscheint.

Ueber das serologische Verhalten des Hülseninhaltes und Dialysats nach Ablauf der Abderhaldenschen Reaktion hat M. Fraenkel berichtet. Er fand, daß der Hülseninhalt eines Wassermann-negativen Serums, gleichgültig, ob mit oder ohne Organ eingestellt, gleichgültig, ob die Ninhydrinreaktion positiv oder negativ, meist Selbsthemmung bei Anstellung der Wassermannschen Reaktion zeigt; das Dialysat ergibt im aktiven Zustande meist leichte Selbsthemmung bei 100 Proz., im inaktiven Zustande positive Wassermannsche Reaktion bei 100 Proz., wobei die Serumkontrolle sich in nichts von dem Versuche mit Organ unterscheidet. Zu erwähnen ist auch, daß Fraenkel durch Hinzufügen von Dialysat zu einem Wassermann-negativen Serum positive Wassermannsche Reaktion hervorrufen konnte. Er sah in den Versuchs-

ergebnissen eine Stütze der Much-Embdenschen Anschauung, daß die Wassermannsche Reaktion durch beim Gewebszerfall entstehende Eiweißspaltprodukte hervorgerufen wird.

Gegenüber jenen Forschern, die der Entstehung der die Ninhydrinreaktion gebenden Stoffe des Dialysats aus dem Serumeiweiß das Wort redeten, muß betont werden, daß sie ihre Anschauungen meist aus Versuchen gewannen, die der Abderhaldenschen Reaktion nachgebildet waren, nicht aber aus dem Studium des Mechanismus der Reaktion selbst. Ferner muß betont werden, daß es doch nicht statthaft ist, Hypothesen anzunehmen, die zwar für den Ablauf einer Reaktion im Reagenzrohr Gültigkeit haben können, sie aber nicht für die Vorgänge in der Dialysierhülse haben müssen, wo nicht nur innere, sondern auch äußere Kräfte wirksam sind. Schließlich muß gesagt werden, daß das von Kafka beschriebene Phänomen, daß es gelingt, bei Einsetzung von vordialysiertem, eiweißfreiem Urin in die Hülse und Einführung von Organen im Dialysat positive Ninhydrinreaktion zu erhalten, stark gegen die Hypothesen der erwähnten Autoren spricht, ganz gleich, wie man die praktische Bedeutung der Anwendung von Urin einschätzt. Da nun aber auch jene Forscher, welche für den Abbau des Organeiweißes eintreten und als Ursache Reaktionskörper vom Ambozeptortypus und Komplement annehmen, ihre Ansichten zwar im Anschluß an den Dialysiersversuch selbst und zwar an Reaktivierungsproben äußerten, die Vorgänge im Serum selbst während der Abderhaldenschen Reaktion aber nicht genügend berücksichtigten, schien es uns, bevor auf diesem Gebiete weitere Meinungen geäußert werden, notwendig, in einer Reihe von Versuchen nachzuforschen, was für bemerkenswerte Ereignisse im Verlaufe des Abderhaldenschen Dialysiersversuches im Hülseinhalt und Dialysat auftreten. Die wesentlichsten Fragestellungen waren damit gegeben, sie mußten sich in erster Linie auf die osmotischen Verhältnisse im Hülseinhalt und Dialysat im Verlauf und am Ende des Versuches beziehen; im Anschluß daran mußte dem Schicksal des im Serum befindlichen Komplements und Normalambozeptors nachgegangen werden; ferner mußte nachgesehen werden, ob eine Aktivierung des inaktiven Serums durch aktiven Urin und umgekehrt mög-

lich ist. Im Tierversuch mußte dann danach gefahndet werden, ob am Ende des Versuches nicht dialysable giftige Spaltprodukte entstehen. Schließlich erforderten die Versuche von Fraenkel und Plaut eine Nachprüfung.

II. Eigene Versuche.

Das in der Hülse zur Dialyse angesetzte Serum steht unter ganz besonderen Bedingungen. Es wird eine bestimmte Menge salzhaltiger Flüssigkeit einer bestimmten, jedoch viel größeren Menge salzfreier Flüssigkeit, getrennt durch eine permeable Membran, gegenübergestellt. Nach den osmotischen Gesetzen werden Salzmoleküle von innen nach außen, andererseits Wassermoleküle von außen nach innen treten. Es ergab sich daher vor allem für uns die Notwendigkeit, die Zunahme des Hülseninhaltes nach Ablauf des Versuches zu messen, und zwar sowohl bei Hülsen, die nur Serum enthielten, wie auch bei solchen, deren Inhalt Serum + Organ bildete, und diese Messungen bei positiver und negativer Ninhydrinreaktion anzustellen. Im Anschluß daran mußte auch die Abnahme des Dialysats gemessen werden.

Tabelle I gibt Proben solcher Messungen wieder; unter a) finden wir die Zunahme von Serum allein zu verschiedenen Zeiten, unter b) die Zunahme der Hülseninhalte am Ende von 3 Versuchen dem Ausfall der Ninhydrinreaktion gegenübergestellt.

Tabelle Ia.

Zunahme des Hülseninhaltes nach verschiedenen Zeiten bei 37°

Nach	Aktives Serum (1 ccm) allein
1 Stunde	1.1
2 Stunden	1.25
3 „	1.35
4 „	1.4
16 „	1.45

Der zeitliche Zuwachs ist also, wie Tabelle Ia zeigt, ein allmählicher, und zwar so, daß die in den einzelnen Stunden hinzutretenden Mengen kleiner werden. Nach 16 Stunden bei 37° zeigt nun häufig, wie auch die beiden ersten Fälle

18*

Tabelle Ib.
Zunahme der Hülseninhalte nach 16 Stunden bei 37°

Organe	Serum 4259, aktiv, 1 ccm		Serum 4248, aktiv, 1 ccm		Serum 4249, aktiv, 1 ccm	
	Nin- hydrin- reaktion	Hülsen- inhalt	Nin- hydrin- reaktion	Hülsen- inhalt	Nin- hydrin- reaktion	Hülsen- inhalt
Gehirnrinde	schw. +	1,4	schw. +	1,25	0	1,8
Gehirnmark	0	1,7	.	.	0	1,9
Hoden	.	.	schw. +	1,2	0	2,0
Ovarium	?-0	1,6
Schilddrüse	?-0	1,25	?	1,5	0	1,6
Nebenniere	0	1,6	.	.	0	1,25
Placenta	0	1,5
(Kontrolle)	0	2,0	0	2,0	0	1,7

der Tabelle Ib erweisen, die aktive Serumkontrolle ohne Organ den größten Zuwachs; es ist aber nicht immer so. In einer Reihe von Fällen scheint es ferner, als würde dort, wo die Ninhydrinreaktion positiv ist, die Zunahme des Hülseninhaltes die geringste sein, dort, wo sie negativ ist, die größte. Ein solches Verhalten würde verständlich sein, da ja die abgebauten Stoffe schnell durch die Dialysierhülse hindurchtreten und im Dialysat die Rolle von Kristalloiden spielen. Doch ist ein solcher Parallelismus nicht allzu häufig, oft findet sich das Verhältnis, wie es der dritte Fall der Tabelle Ib zeigt. Gerade solche Fälle veranlaßten uns, der Frage näher zu treten, inwiefern die Eigenart der Hülse selbst und andere Umstände die Größe der Flüssigkeitszunahme in der Hülse beeinflussen. Zu diesen Versuchen bedienten wir uns einer 0,9-proz. Kochsalzlösung, von der je 1 ccm gegen 20 ccm destillierten Wassers in nach Abderhalden geeichten Hülsen dialysiert wurde; in einzelnen Versuchen wurden auch Organstücke zur Kochsalzlösung hinzugesetzt. Diese Versuche ergaben nun, daß die Dialyse bei 37° schneller vor sich geht, als bei Zimmertemperatur, und daher die Zunahme des Hülseninhaltes schneller ansteigt. Schon bei unseren Serumversuchen hatten wir nachweisen können, was wir auch hier wieder bestätigt fanden, daß nämlich bei der Dialyse bei 37° ein weiterer Zuwachs nach Ablauf der 16 Stunden nicht mehr eintreten pflegt. Auf diesen Punkt werden wir später noch

einzugehen haben. Unsere Versuche lehren uns auch, wie notwendig es ist, das Dialysierwasser mit der Pipette genau einzufüllen, da natürlich der Zuwachs des Hülseninhaltes auch davon abhängig ist; die gewöhnliche Art des Einfüllens bis zum Eichstrich ist sehr ungenau. — Im weiteren Verlaufe unserer Kochsalzversuche zeigte sich nun, daß trotz genauester Einfüllung der gleichen Kochsalzlösung und des Dialysierwassers sich doch Verschiedenheiten im Zuwachs des Hülseninhaltes am Ende des Versuches ergaben. Bei der Prüfung mit Peptonen wiesen aber solche Hülsen keinen Unterschied von den anderen in ihrer Durchgängigkeit von innen nach außen auf.

Ein Versuch (Tabelle II) soll uns über diese Verhältnisse belehren.

Tabelle II.

3 geeichte Dialysierhülsen (a, b, c) werden mit je 1 ccm der gleichen 0,9-proz. Kochsalzlösung beschickt und im Erlenmeyerkölbchen zur Dialyse gegen je 20 ccm destilliertes Wasser angesetzt. Nach 16-stündiger Bebrütung werden Hülseninhalt und Dialysat mit den gleichen Pipetten gemessen:

Hülse	Inhalt	Dialysat
a	1,4	19,5
b	3,0	17,0
c	1,7	19,2

Hülse b hatte also auffallend mehr Wasser aufgenommen. — Nun wurde je 1 ccm destilliertes Wasser in die Hülsen eingefüllt, als Außenflüssigkeit diente 5 ccm 0,5-proz. Seidenpepton + 15 ccm destilliertes Wasser. Nach 16 Stunden Bebrütung ergab sich bei Besichtigung und Messung des Hülseninhaltes, sowie nach Anstellung der Ninhydrinreaktion (es wurden alle Hülseninhalte auf 2,1 gebracht und mit 0,1 1-proz. Ninhydrin $\frac{1}{2}$ Min. gekocht):

Hülse	Inhalt		
	Messung	Farbe	Ninhydrinreaktion
a	1,1	farblos	blau
b	2,1	gelblich	dunkelblau
c	1,05	farblos	blau

Es werden dann die gleichen Hülsen mit 2 ccm 0,5-proz. Seidenpeptonlösung beschickt, und es wird gegen 20 ccm destilliertes Wasser dialysiert. Nach 16 Stunden Bebrütung wird mit dem Dialysat die gewöhnliche Peptonprobe angestellt; sie ergibt bei allen drei Flüssigkeiten die gleiche Stärke der Blaufärbung.

Aus diesem Versuche geht also ebenfalls hervor, daß wir durch die gewöhnliche Peptonprüfung über diese Verschiedenheit der Hülsen nichts erfahren. Wir haben dann noch nicht geeichte frische Hülsen in der Weise geprüft, wie es Tabelle III zeigt. Dieser Versuch sollte die oben beschriebenen Verhältnisse an einem größeren Material klären. Der Versuch zeigt, daß man durch Kölbchenwechsel manche Verschiedenheit ausgleichen kann, daß aber in einzelnen Hülsen, wie z. B. 1., 7., 16., 20., die erhöhte Durchgängigkeit von außen nach innen bestehen bleibt. Wir können also annehmen, daß die verschiedene Kölbchenweite und die verschiedene Hülsendicke und -weite in manchen Fällen für die oben genannten augenscheinlichen Verschiedenheiten im Durchtritt von außen nach innen verantwortlich zu machen ist; der Spiegel der Außenflüssigkeit steht eben dann zu hoch, und es kommt zum Wassereintritt, bevor noch das Spiel der osmotischen Kräfte begonnen hat. In einer Reihe von Fällen aber scheint es tatsächlich nicht an jenen auswechselbaren Bedingungen zu liegen, sondern der Grund für den erhöhten Durchtritt liegt in dem Bau der Hülse selbst. Solche Hülsen sollen bei der praktischen Verwendung des Dialysierverfahrens ausgeschlossen werden, denn durch die Wasserverminderung wird das Dialysat stets konzentrierter an mit Ninhydrin reagierenden Stoffen sein. Es sollte daher der Hülseicheung stets eine solche Prüfung angeschlossen werden, wie wir sie in unserer Tabelle III skizziert haben.

In zweiter Reihe handelte es sich uns darum, den Salzgehalt des Hülseninhalts und Dialysats am Ende des Dialysierversuches festzustellen. Da, wie wir schon erwähnt haben, der Hülseninhalt nach Ablauf von 16 Stunden keine wesentliche Vermehrung mehr erfährt (das Maximum ist meist schon früher erreicht), so sind wir zur Annahme genötigt, daß sich zu dieser Zeit Hülseninhalt und Dialysat in Isotonie befinden. Davon haben uns auch vergleichende Untersuchungen beider Flüssigkeiten mit dem Interferometer überzeugt. Auch da, wo aus anderen oben beschriebenen Gründen gleich zu Beginn des Versuches etwas Wasser in die Hülse übertritt, bildet sich im Laufe des Versuches allmählich Isotonie aus. Daraus ergibt sich, daß das Serum am Ende des Dialysierversuches sehr salzarm ist.

Tabelle III. Zur Hülsezeichnung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hülse N ^o	18. I. 15 Hülse- inhalts bei Be- ginn des Ver- suches	18. I. 15 Dialysat bei Be- ginn des Ver- suches	Nach 17 Std. Brutschrank 18.—19. I. 15	Peptonversuch 2 ccm 1-proz. Säulenpepton gegen 20 ccm Aq. dest. in denselben Hülsen und Kölbchen 10.—20. I. 15 Nach 16 Stun- den 37°	Wieder 1 ccm 0,9-pr. NaCl gegen 20 Aq. dest. in denselben Hülsen, aber ande- ren Kölbchen 20.—21. I. 15 Nach 16 Std. 37°	Wieder 1 ccm 0,9-pr. NaCl gegen 20 Aq. dest. in denselben Hülsen und den- selben Kölbchen 21.—22. I. 15 Nach 16 Std. 37°	Biuretprobe Eierweiß gegen 20 Aq. dest. in den- selben Hü- lsen und ande- ren Kölbchen 22.—23. I. 15 Nach 16 Stun- den 37°	Wieder 1 ccm 0,9-pr. NaCl gegen 20 Aq. dest. in denselben Hülsen Kölbchen 24.—25. I. 15 Nach 16 Std. 37°	Wieder 1 ccm 0,9- proz. NaCl gegen 20 Aq. dest. in denselben Hül- sen und den- selben Kölbchen 25.—26. I. 16 Nach 16 Std. 37°
			Hülse- inhalts Dialysat	Ninhydrin- reaktion des Dialysats	Hülse- inhalts Dialysat	Hülse- inhalts Dialysat	Biuretprobe des Dialysats	Hülse- inhalts Dialysat	Hülse- inhalts Dialysat
1	1 ccm 0,9-proz. NaCl	20 ccm Aq. dest.	3,9	IV	3,6	17,3	17,5	18,0	18,4
2	"	"	2,1	III	2,5	18,3	18,8	19,3	19,2
3	"	"	1,2	II	1,4	19,5	19,5	19,6	19,6
4	"	"	1,7	II—III	1,9	19,0	19,2	19,7	19,7
5	"	"	1,15	II	1,4	19,5	19,5	19,7	19,7
6	"	"	1,32	II—III	1,95	19,1	18,9	19,7	19,7
7	"	"	2,25	II	3,4	17,4	17,7	18,8	19,0
8	"	"	2,1	III—IV	3,5	17,4	18,4	19,6	19,5
9	"	"	2,1	I	2,0	18,9	19,0	19,2	19,3
10	"	"	2,2	II	3,3	17,5	18,0	19,3	19,6
11	"	"	1,4	I—II	2,9	18,0	18,1	19,3	19,4
12	"	"	2,2	I—II	2,6	18,2	18,5	19,6	19,5
13	"	"	1,9	III	1,8	19,0	19,0	19,5	19,3
14	"	"	3,0	III—IV	3,6	17,2	17,0	19,1	19,3
15	"	"	1,1	IV—V	2,4	18,5	18,9	19,6	19,6
16	"	"	4,0	III—IV	3,2	17,6	17,3	19,3	19,65
17	"	"	1,7	II—III	1,9	19,0	19,0	19,3	19,6
18	"	"	1,9	III	3,0	17,8	18,3	19,3	19,6
19	"	"	2,0	III—IV	2,9	18,0	18,9	19,3	19,6
20	"	"	3,5	III—IV	3,0	17,8	17,2	19,3	19,6
21	"	"	1,4	III—IV	1,7	19,1	19,1	19,3	19,6
22	"	"	2,8	III	2,5	18,4	18,3	19,3	19,6
23	"	"	1,6	I—II	2,0	19,0	19,0	19,3	19,6
24	"	"	1,9	II—III	3,0	17,8	18,9	19,3	19,6
25	"	"	4,0	III	3,8	17,0	17,3	19,3	19,6

Es war nun nur folgerichtig, wenn wir in unseren weiteren Versuchen dem Schicksal des im Blut vorhandenen hämolytischen Eigenkomplements und Normalambozeptors nachgingen, zumal die Versuche von Sachs und Teruuchi ergeben hatten, daß das Komplement im salzarmen Medium seine Wirksamkeit einbüßt. Für die Versuchsanordnung nach Abderhalden kam aber außerdem noch in Betracht, daß das Komplement durch längere Zeit einer Temperatur von 37° ausgesetzt wird, durch welche Einwirkung es ebenfalls geschädigt wird (Liefmann und Cohn). Für unsere Versuche nun eine geeignete Technik zu finden, war nicht ganz leicht.

In Vorversuchen bestimmten wir vor allem im frischen Serum den Komplement- und Normalambozeptorgehalt in der Weise, daß einerseits zu absteigenden Mengen des aktiven Serums je $\frac{1}{4}$ ccm 5-proz. Hammelbluts hinzugesetzt, auf 1 ccm mit 0,9-proz. NaCl-Lösung aufgefüllt und nach 2 Stunden Bebrütung und nach weiteren 16–20 Stunden Eisschrank abgelesen wurde — andererseits zu absteigenden Mengen des inaktiven Serums 0,05 ccm frisches Komplement und 0,5 ccm 5-proz. Hammelblut hinzugefügt und auf 1 ccm aufgefüllt wurde; Ablesung wie im aktiven Versuche. Der gleiche Versuch wurde nun mit dem Hülseninhalt nach Ablauf der Abderhaldenschen Reaktion mit und ohne Organ angestellt. Nach unseren Studien über den Zuwachs des Hülseninhaltes mußten natürlich die in Versuch einzustellenden Mengen des beeinflussten Serums proportional geändert werden. Hierbei aber zeigte sich, wenn die verwendete Menge des Hülseninhaltes 0,5 ccm und mehr betrug, oft unspezifische Hämolyse. Um diese zu vermeiden oder geringer zu machen, füllten wir den Hülseninhalt im späteren Versuch mit 0,9-proz. NaCl-Lösung auf 2,5 oder mehr auf und verteilten erst dann. Um nun über die Ergebnisse Klarheit zu gewinnen und ferner die Reaktivierung des Komplementes im geeigneten Salzgehalt zu untersuchen, mußte an Besalzung des Hülseninhaltes gedacht werden. Diese konnte erst dann erfolgen, als festgestellt worden war, daß am Ende des Dialyserversuches Hülseninhalt und Dialysat sich in Isotonie befinden. Es konnte so der prozentuelle Salzgehalt beider Medien errechnet werden. Es wurde dann so besalzen, daß dabei stets auf 2,5 ccm aufgefüllt wurde, und zwar mit Kochsalzlösungen, die nach einem bestimmten Plan aus 4-proz. Stammlösung hergestellt worden waren.

Nach diesen allgemeinen Vorbemerkungen seien nun eine Reihe von Versuchsprotokollen besprochen. Vorausgeschickt sei, daß sich schon aus unseren Vorversuchen ergeben hatte, daß der hämolytische Normalambozeptor während des Dialyserversuches nicht oder kaum merk-

lich geschädigt wird. Es folgt ein Versuch, der die Einwirkung von Wasserverdünnung und Temperatur auf das Eigenkomplement darstellen soll — ohne Dialyse (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Aktives Serum D; je 1 ccm wird mit 1 ccm destilliertem Wasser versetzt, eine solche Probe bleibt 16 Stunden im Brutschrank (A), eine bleibt ebensolange bei Zimmertemperatur stehen (B). Am Ende dieser Zeit wird von beiden Proben die Hälfte besalzen, die Hälfte nicht besalzen, und es werden alle Teile und das unbeeinflusste Serum auf Komplementgehalt geprüft, indem überall 0,5 ccm 5-proz. Hammelblut zugesetzt und auf 1 ccm aufgefüllt wird.

Tabelle IV.

Unbeeinflusstes aktives Serum	Mengen	0,2	0,1	0,05	0,025	0,01					
	Resultat nach 2 Std. 37° 16 Std. Eisschr.	k. L.	k. L.	k. L.	wenig	Spur					
		nicht besalzen					besalzen				
A	Mengen	0,4	0,2	0,1	0,05	0,02	0,6	0,3	0,15	0,075	0,03
	Resultat nach 2 Std. 37° und 16 Std. Eisschr.	wenig bis Spur	Spur bis Spürch.	f. θ	θ	θ	Spur	Spürch.	f. θ	θ	θ
B	Mengen	0,4	0,2	0,1	0,05	0,02	0,6	0,3	0,15	0,075	0,03
	Resultat nach 2 Std. 37° und 16 Std. Eisschr.	k. bis st. L.	k. L.	st. L.	mäßig	wenig bis Spur	k. L.	k. L.	st. L.	mäßig	θ

Dieser Versuch ergibt also, daß durch die Temperatur von 37° eine starke Aufhebung der Wirksamkeit des Komplements hervorgerufen worden ist, die sich durch Besalzung nicht beheben läßt. Die Verdünnung auf das Doppelte spielt kaum eine Rolle. Es sind aber nicht alle Seren so thermolabil; wie wir schon aus unseren Vorversuchen gesehen und aus weiteren Versuchen erkennen werden, ist diese Herabsetzung durch die langdauernde Einwirkung von 37° oft nur eine geringe, während die Inaktivierung als Folge der Salzarmut des Mediums anzusehen ist. Wie sich nun das Komplement am Ende eines Dialyserversuches und nach 2-stündiger Dialyse mit und ohne Organ verteilt, zeigt uns der folgende Versuch (Tabelle V).

Tabelle V.

Das Serum K. wurde im Dialyserversuch in der gewöhnlichen Weise mit verschiedenen Organen angesetzt; eine Hülse mit Serum + Organ und eine

mit Serum allein wurde nur 2 Stunden gegen 20 ccm destilliertes Wasser dialysiert. Am Ende des Abderhaldenschen Versuches wurden die Hülseinhalte gemessen, mit 0,9-proz. NaCl-Lösung auf 3 ccm aufgefüllt und nach Mischung auf 3 Röhrchen in den Mengen 1,0, 0,5 und 0,25 (entsprechend den Serummengen 0,33, 0,16, 0,08) verteilt, der Inhalt der Röhrchen durch 0,9-proz. NaCl-Lösung auf 1 ccm gebracht und überall $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Hammelblut zugefügt. Die Ablesung erfolgt nach 2 Stunden bei 37° und weiteren 16 Stunden Eisschränk. Vom unbeeinflussten aktiven Serum wurde zur Kontrolle 1 ccm mit Kochsalzlösung auf 3 ccm aufgefüllt und sonst gleich behandelt.

Hülsen No.	Inhalt	Dialysierzeit bei 37°	Ninhydrinreaktion	Messung des Hülseinhaltes	Auffüllg. mit 0,9-proz. NaCl	Verteilung	Auffüllg. mit 0,9-proz. NaCl	5-proz. Hammelblut	Ergebnis nach 2 Std. 37° und 16 Std. Eisschr.
1	Akt. S. + Gehirnrinde	16 Std.	f. schw. +	1,3	1,7	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75	0,5 0,5 0,5	Spur θ bis Spürchen θ
2	Akt. S. + Ovarium	16 Std.	+	2,0	1,0	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75	0,5 0,5 0,5	Spur bis wenig θ bis Spürchen θ
3	Akt. S. + Ovarium	2 Std.	n. g. *)	1,3	1,7	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75	0,5 0,5 0,5	kompl. Lös. starke Lös. mäßig starke Lös.
4	Akt. S. + Schilddrüse	16 Std.	θ	1,9	1,1	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75	0,5 0,5 0,5	Spur bis wenig θ bis Spürchen θ
5	Akt. S. + Nebenniere	16 Std.	θ	1,55	1,45	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75	0,5 0,5 0,5	Spur θ bis Spürchen θ
6	Akt. S. allein	16 Std.	θ	1,4	1,6	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75	0,5 0,5 0,5	Spur θ bis Spürchen θ
7	Akt. S. allein	2 Std.	n. g.	1,23	1,67	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75	0,5 0,5 0,5	kompl. Lös. starke Lös. starke Lös.
—	Unbeeinflusst. akt. Serum			1,0	2,0	1,0 0,5 0,25	— 0,5 0,75 1,10	0,5 0,5 0,5 0,5	kompl. Lös. kompl. Lös. kompl. Lös. θ

*) n. g. = nicht gemacht.

Der Versuch zeigt eine sehr starke Herabsetzung der Komplementwirkung, während der Gehalt des unbeeinflussten Serums an Komplement ein großer ist (komplette Lösung bei 0,08). Es ergibt sich ferner, daß die Einschränkung der Komplementwirkung überall ungefähr gleichmäßig ist, daß sie besonders in Hülsen mit und ohne Organ übereinstimmt und

von dem Ausfall der Ninhydrinreaktion unabhängig ist; gerade dort, wo diese am stärksten ist, ist gerade entgegengesetzt den Hypothesen der Autoren die Komplementabschwächung anscheinend die relativ geringste; doch ist diese Erscheinung auch nicht nach der anderen Seite hin zu verwerten, sondern der Grund dafür ist wohl darin zu suchen, daß sich in dieser Hülse der Inhalt am meisten vermehrt hat und daher die Möglichkeit der unspezifischen Hämolyse naheliegend ist. Daß es übrigens in diesem Versuche nicht zum vollkommenen Komplementschwund gekommen ist, darüber soll im Anschluß an andere Versuche ausführlicher gesprochen werden. Die 2-stündige Dialyse (Hülse 3 und 7) hat in diesem Falle die Komplementwirkung schon deutlich herabgesetzt, wie der Vergleich mit dem unbeeinflussten Serum lehrt. In anderen Fällen ist diese Abschwächung noch deutlicher. Ein Extrem in dieser Beziehung bildet der folgende Versuch (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Vom aktiven Serum L. werden je 1 ccm in 5 verschiedene Dialysierhülsen gegeben und 1, 2, 3, 4 und 16 Stunden im Brutschrank gegen 20 ccm destilliertes Wasser dialysiert. Am Ende der Dialysierzeit wird der Hülseninhalt gemessen; dann werden alle Röhrchen mit 0,9-proz. NaCl-Lösung auf 3 ccm aufgefüllt und davon 1 ccm und 0,5 ccm in den Versuch eingesetzt. Vom unbeeinflussten aktiven Serum wird ebenfalls 1 ccm auf 3 ccm aufgefüllt und in gleicher Weise bearbeitet.

Hülsen No.	Inhalt	Dialysierzeit bei 37°	Messung des Hülseninhaltes	Auffüllung mit 0,9-proz. NaCl	Verteilung	Röhrchen No.	Auffüllung mit 0,9-proz. NaCl	5-proz. Hammelblut	Ablesung nach 2 Std. Brutschrank und 16 Std. Eisschrank
1	1 ccm	1 Std.	1,1	1,9	1,0 0,5	1 — 2 0,5	0,5 0,5	0,5 0,5	Spürchen + bis Spürchen
2	1 ccm	2 Std.	1,25	1,75	1,0 0,5	3 — 4 0,5	0,5 0,5	0,5 0,5	+ +
3	1 ccm	3 Std.	1,35	1,65	1,0 0,5	5 — 6 0,5	0,5 0,5	0,5 0,5	+ +
4	1 ccm	4 Std.	1,4	1,6	1,0 0,5	7 — 8 0,5	0,5 0,5	0,5 0,5	+ +
5	1 ccm	16 Std.	1,45	1,55	1,0 0,5	9 — 10 0,5	0,5 0,5	0,5 0,5	+ +
	Unbeeinfl. akt. Ser. 1 ccm	—	1,0	2,0	1,0 0,5	11 — 12 0,5 13 2,0	0,5 0,5 0,5	0,5 0,5 0,5	kompl. Lösung starke bis kompl. Lös. +

In diesem Falle tritt also schon nach 1 Stunde Dialyse sehr starke Komplementabsetzung ein, und nach längerer Dialyse ist Komplement nicht mehr nachzuweisen, trotzdem es im unbeeinflussten Serum deutlich vorhanden ist (Röhrchen No. 11 und 12). In Analogie zu den Untersuchungen von Sachs und Teruuchi versuchten wir weiter durch vorausgehende $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzung des aktiven Serum auf 51° die Komplementabschwächung zu beheben; es gelang uns niemals. — Es fragte sich nun wieweit durch Besalzen des Hülseninhaltes sich die Komplementwirkung reaktivieren ließe und wie in diesem Falle verschiedene Temperatur und Veränderung der Flüssigkeit, gegen die dialysiert wird, wirken. Einen solchen Versuch zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

Es wird von den aktiven Seren M. und H. in verschiedenen Hülsen zur Dialyse angesetzt:

(A, B, C, D) je 1 ccm gegen 20 ccm destilliertes Wasser bei 37° , je zweimal;

(E, F) je 1 ccm gegen 20 ccm destilliertes Wasser bei Zimmertemperatur;

(G, H) je 1 ccm gegen 20 ccm 0,9-proz. NaCl-Lösung;

(I, K) je 0,5 ccm + 0,5 inaktives Serum gegen 20 ccm destilliertes Wasser bei 37° .

Nach 16 Stunden wird der Hülseninhalt gemessen und B und D bei 56° inaktiviert. Dann werden alle Hülseninhalte besalzen bis auf G, H; diese werden durch 0,9-proz. NaCl-Lösung auf 2,5 ccm aufgefüllt. Es wird dann überall noch auf 3 ccm aufgefüllt und überall 0,5 ccm 5-proz. Hammelblut hinzugefügt. Vom unbeeinflussten Serum M und H wird 1 ccm auf 3 ccm aufgefüllt und in gleicher Weise bearbeitet (L, M).

Bez.	Messung des Hülseninhalts		Menge der Besalzungslösung	0,9-proz. NaCl-Lös.	5-proz. Hammelblut	nach 2 Std. Brutschrank
A	1,65	inaktiviert	0,9	0,5	0,5	Spürchen
B	1,9		0,6	0,5	0,5	+
C	1,45	inaktiviert	1,1	0,5	0,5	wenig
D	2,8		0,2 →	—	0,5	+
E	1,5		1,0	0,5	0,5	wenig
F	1,75		0,8	0,5	0,5	kompl. Lös.
G	1,25		1,3	0,5	0,5	kompl. Lös.
H	1,44		1,1	0,5	0,5	starke Lös.
I	3,3		—	0,5	0,5	kompl. Lös.
K	1,45		1,1	0,5	0,5	mäßig
L	Unbeeinfl. S. 1,0			2,0	0,5	kompl. Lös.
M	1,0			2,0	0,5	kompl. Lös.

Dieser Versuch zeigt, daß auch bei Besalzung die Herabsetzung der Komplementwirkung eine starke ist. Ob es sich hier um eine ganz schwache Reaktivierung handelt, läßt sich nicht sagen, da den besalzenen keine unbesalzenen Proben gegenüberstehen; sie ist aber nach unseren Erfahrungen nicht wahrscheinlich. Weiter ist deutlich zu sehen, daß beide Faktoren, sowohl Salzarmut wie die Temperatur von 37°, an der Schwächung der Komplementwirkung mitbeteiligt sind, und zwar anscheinend bei beiden Seren in verschiedenem Grade. Die komplette Lösung in Röhrchen I ist auf unspezifische Hämolyse zurückzuführen. In einem der nächsten Versuche werden nun besalzene und unbesalzene Proben einander gegenübergestellt (Tabelle VIII, p. 280).

Dieser Versuch zeigt in einwandfreier Weise, daß in Fällen völligen Komplementschwundes auch durch Besalzung eine Reaktivierung des Komplements nicht statthatt, gleichgültig wieder, ob der Hülseninhalt aus Serum + Organ oder Serum allein bestand, gleichgültig auch, wie der Ausfall der Ninhydrinreaktion war. Der Versuch zeigt außerdem sehr schön die Intaktheit des Normalambozeptors (Röhrchen 9–12) am Ende des Dialyserversuches.

Es lag nun nahe, da eine Reaktivierung des Komplements durch Besalzung nicht gelungen war, weiter zu untersuchen, ob durch Hinzufügung einer der Komponenten des Komplements eine Wiederherstellung der Komplementwirkung ermöglicht werden würde. Zu dem Zwecke wurde das in Betracht kommende Komplement nach der Methode von Sachs und Altmann gespalten (Versuche nach der H. Braunschen Technik sind im Gange); das Mittelstück wurde zuerst nach Waschung in der doppelten Menge Kochsalzlösung gelöst. Vor Anstellung des Versuches geschah dann die weitere Verdünnung auf das 10-fache des ursprünglichen Serumvolumens, so daß 1 ccm Mittelstück 0,1 Serum

Tabelle VIII.

Von den aktiven Seren R. und Sch. werden in je 2 Hülsen je 1 ccm gegen 20 ccm destilliertes Wasser im Brutschrank dialysiert (A, B, C, D); außerdem wird je 1 ccm des inaktiven Serums in 2 Fällen in gleicher Weise behandelt (E, F). Nach 16 Stunden Bebrütung werden die Hülsen

inhalte gemessen und vom aktiven Serum je eine Probe besalzen, die andere mit 0,9-proz. NaCl-Lösung auf 2,5 aufgefüllt. Nach Mischung wird in zwei Röhrchen je 1 und 0,5 ccm verteilt; die inaktiven Proben werden besalzen und es wird ebenso verfahren. Von den unbeeinflussten Seren wird je 1 ccm des aktiven (G, H) und inaktiven (I, K) Serums auf 2,5 aufgefüllt und ebenso verfahren. Im Hauptversuch kommt zu den inaktiven Proben 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenkomplement, die Röhrchen werden ergänzt und 0,5 ccm 5-proz. Hammelblut hinzugesetzt. Außerdem wird zur Kontrolle noch ein nach Abderhalden angesetzter Versuch eingestellt.

Bezeichnung	Hülseninhalt am Versuchs- beginn	Ninhydrin- reaktion	Messung am Ende des Versuches	Auffüllung mit 0,9-proz. NaCl-Lösung	Besalzungs- flüssigkeit	Verteilung	Röhrchen No.	0,9-proz. NaCl-Lösung	5-proz. Komplement	5-proz. Hammelblut	Ablesung nach 2 Stunden Brutschrank
A	Akt. S. 1 ccm	n. g. *)	1,35	—	1,2	1,5	1	1,0	—	0,5	θ
B	Akt. S. 1 ccm	„	1,15	1,35	—	1,0	2	1,5	—	0,5	Spürchen bis θ
C	Akt. S. 1 ccm	„	1,6	—	0,9	1,5	3	1,0	—	0,5	θ
D	Akt. S. 1 ccm	„	1,25	1,25	—	1,0	4	1,5	—	0,5	θ
E	Inakt. S. 1 ccm	„	1,15	—	1,4	1,5	5	—	1,0	0,5	θ
F	Inakt. S. 1 ccm	„	1,5	—	1,0	1,0	6	0,5	1,0	0,5	θ
G	—	„	1,0	1,5	—	1,5	7	1,0	—	0,5	θ
H	—	„	1,0	1,5	—	1,0	8	1,5	—	0,5	θ
I	—	„	1,0	1,5	—	1,5	9	1,0	—	0,5	kompl. Lösung
K	—	„	1,0	1,5	—	1,0	10	1,5	—	0,5	„ „
1	1 ccm a. S. + Gehirnrinde	?	1,2	—	1,3	1,5	11	—	1,0	0,5	„ „
2	1 ccm a. S. + Gehirnmark	?	1,7	—	0,8	1,0	12	0,5	1,0	0,5	starke bis kompl. Lös.
3	1 ccm a. S. + Hoden	schw. +	1,6	—	0,9	1,5	13	1,0	—	0,5	kompl. Lösung
4	1 ccm a. S. + Schilddrüse	schw. +	1,05	—	1,4	1,0	14	1,5	—	0,5	„ „
5	1 ccm a. S. + Nebenniere	? bis θ	1,25	—	1,3	1,5	15	1,0	—	0,5	„ „
6	1 ccm a. S. allein	θ	1,3	—	1,2	1,0	16	1,5	—	0,5	„ „
7	—		1,0	1,5	—	1,5	17	—	1,0	0,5	„ „
						1,0	18	0,5	1,0	0,5	„ „
						1,5	19	—	1,0	0,5	„ „
						1,0	20	0,5	1,0	0,5	„ „
						1,5	21	1,0	—	0,5	θ
						1,0	22	1,5	—	0,5	θ
						1,5	23	1,0	—	0,5	θ
						1,0	24	1,5	—	0,5	θ
						1,5	25	1,0	—	0,5	θ
						1,0	26	1,5	—	0,5	θ
						1,5	27	1,0	—	0,5	θ
						1,0	28	1,5	—	0,5	θ
						1,5	29	1,0	—	0,5	θ
						1,0	30	1,5	—	0,5	θ
						1,5	31	1,0	—	0,5	θ
						1,0	32	1,5	—	0,5	θ
						1,5	33	1,0	—	0,5	kompl. Lösung
						1,0	34	1,5	—	0,5	„ „

*) n. g. = nicht gemacht.

entspricht. Ein Versuch (Tabelle IX) zeigt die ersten Ergebnisse.

Tabelle IX.

Frisches Meerschweinchenserum wird gespalten. Aus 2 nach Abderhalden angesetzten Versuchen werden die Hülseinhalte nach Registrierung der Resultate wie früher gemessen, besalzen, auf 3 ccm aufgefüllt, in 3 Röhrchen zu je 1 ccm verteilt, dann wird immer aufeinander folgend zu einem Röhrchen 1 ccm 0,9-proz. NaCl, zu dem nächsten 1 ccm Mittelstück, zu dem dritten 1 ccm Endstück hinzugefügt. Dann 0,5-proz. Hammelblut. Zur Kontrolle wird der Komplementgehalt der aktiven unbeeinflussten Sera bestimmt.

Hül- sen- No.	Inhalt zu Beginn der Dialysier- versuche	Ninhydrin- reaktion	Messung am Ende des Dialy- sierungs- versuches	Besalzung 0,9-proz. NaCl	Verteilung	Röhrchen-No. 0,9-proz. NaCl	Mittelstück	Endstück	5-proz. Hbl.	Ablesung nach 2 Std. Brut- schrank
1 (25)	1 ccm a. S. W + Gehirn- rinde	θ — ?	1,8	0,7 0,5	1 ccm	1 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	2 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	3 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	Spur gelbl.
2 (27)	1 ccm a. S. W + Hoden	schw. +	1,58	0,9 0,5	1 "	4 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	5 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	6 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	Spur gelbl.
3 (29)	1 ccm a. S. W + Neben- niere	θ	1,3	1,2 0,5	1 "	7 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	8 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	9 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	gelblich
4 (30)	1 ccm a. S. W allein	θ	2,0	0,5 0,5	1 "	10 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	11 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	12 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	Spürchen
5 (43)	1 ccm a. S. D + Gehirn- rinde	?	1,25	1,3 0,5	1 "	13 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	14 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	15 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	0 — Spürch.
6 (45)	1 ccm a. S. D + Hoden	+	1,45	1,1 0,5	1 "	16 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	17 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	18 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	Spürchen
7 (47)	1 ccm a. S. D + Neben- niere	θ	1,0	1,5 0,5	1 "	19 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	20 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	21 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	θ
8 (48)	1 ccm a. S. D allein	θ	2,1	0,4 0,5	1 "	22 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	Spürchen
					1 "	23 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
					1 "	24 — — 1,0 0,5	—	—	0,5	Spürchen
			Ser. W akt. 1,0	1,5 0,5	1 "	25 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	kompl. Lös.
					1 "	26 — 1,0 — 0,5	—	—	0,5	—
					0,5 "	27 1,5 — — 0,5	—	—	0,5	kompl. Lös.
			Ser. D akt. 1,0	1,5 0,5	1 "	28 1,0 — — 0,5	—	—	0,5	"
					0,5 "	29 1,5 — — 0,5	—	—	0,5	"
						30 1,0 1,0 — 0,5	—	—	0,5	θ
						31 1,0 — 1,0 0,5	—	—	0,5	θ
						32 — 1,0 1,0 0,5	—	—	0,5	θ

Es macht nach diesem Versuche den Eindruck, als würde Meerschweinchenendstück eine Restitution minimalster Art bewirken können. Im nächsten Versuche arbeiteten wir auch mit den Komplementbestandteilen des Menschenserums (Tabelle X).

Tabelle X.

Mit dem Serum S. wird der Dialysierversuch nach Abderhalden angesetzt. Dasselbe Serum wird nach Sachs und Altmann in seine Komponenten zerlegt, ebenso frisches Meerschweinchen Serum. Am Ende des Dialysierversuches werden die Hülseinhalte gemessen, wie früher besalzen und auch sonst wie im vorigen Versuche verfahren, nur das mit dem Mittelstück S. und M. Schw., sowie mit den beiden Endstücken variiert wird.

Hülse-No.	Inhalt zu Beginn des Dialysierversuches	Ninhydrinreaktion	Messung am Ende des Versuches	Besalzung 0,9-proz. NaCl	Verteilung Röhren-No.	0,9-proz. NaCl	Mittelstück S	Mittelstück M. Schw.	Endstück S	Endstück M. Schw.	5-proz. Hammelblut	Ablesung 2 Std. 37°
1	1 ccm a. S. + Gehirnrinde	θ	1,3	1,2 0,5	1,0 1	1,0	—	—	—	—	0,5	θ
					1,0 2	—	—	—	1,0	—	0,5	Spürch. — Sp.
					1,0 3	—	—	—	—	1,0	0,5	Spürchen
2	1 ccm a. S. + Gehirnmarm	θ	1,2	1,3 0,5	1,0 4	1,0	—	—	—	—	0,5	θ
					1,0 5	—	—	—	1,0	—	0,5	mäßig stark
					1,0 6	—	1,0	—	—	—	0,5	θ — Spürchen
3	1 ccm a. S. + Hoden	θ	1,45	1,1 0,5	1,0 7	1,0	—	—	—	—	0,5	stark
					1,0 8	—	—	—	—	1,0	0,5	stark
					1,0 9	—	—	1,0	—	—	0,5	Spürch. Sp.
4	1 ccm a. S. + Schilddrüse	θ	1,4	1,1 0,5	1,0 10	1,0	—	—	—	—	0,5	θ
					1,0 11	—	—	—	1,0	—	0,5	stark
					1,0 12	—	—	—	—	1,0	0,5	wenig — mäß.
5	1 ccm a. S. + Nebenniere	θ	1,35	1,2 0,5	1,0 13	1,0	—	—	—	—	0,5	θ
					1,0 14	—	1,0	—	—	—	0,5	θ — Spürchen
					1,0 15	—	—	—	1,0	—	0,5	wenig — mäß.
6	1 ccm a. S. allein	θ	2,0 Unbeeinfl. akt. S. 1,0	0,5 0,5	1,0 16	1,0	—	—	—	—	0,5	θ
					1,0 17	—	—	—	1,0	—	0,5	mäßig — stark
					1,0 18	—	—	—	—	1,0	0,5	Spur
					1,0 19	1,0	—	—	—	—	0,5	kompl. Lös.
					20	1,0	—	—	1,0	—	0,5	θ — Spürchen
					21	1,0	—	—	—	1,0	0,5	θ
					22	1,0	1,0	—	—	—	0,5	θ
					23	1,0	—	1,0	—	—	0,5	θ
					24	2,0	—	—	—	—	0,5	θ

Auch nach diesem Versuche scheint es, als ließe sich das Komplement zum Teil durch Endstückzusatz restituieren, und zwar etwas besser durch das eigene Komplementendstück. Wir haben nun in dem nächsten Versuche, um überall mit gleichen Bedingungen zu arbeiten, den Normalambozeptor in

Tabelle XI.

Es werden die Hülseninhalte eines Dialysierversuches nach Abderhalden gemessen und wie früher besalzen, dann wird durch Hinzufügung von $\frac{1}{2}$ ccm purem Hammelblut in der Kälte ($\frac{1}{2}$ Stunde) der Normalambozeptor überall absorbiert, zentrifugiert, auf 3 ccm aufgefüllt, dann jeder Inhalt auf 3 Röhrchen zu je 1 ccm verteilt, 10-facher Immunambozeptor hinzugegeben und die Bestandteile frischen Meerschweinchenkomplements abwechselnd dazugefügt; das unbeeinflusste Serum wird mit den übrigen Kontrollen eingestellt. Von 2 aktiven Seren werden Hülsen mit je 1 ccm beschickt und bei 37° sowie Zimmertemperatur 16 Stunden dialysiert.

Hülsen-No.	Inhalt zu Beginn des Dialysierversuches	Ninhydrinreaktion	Messung am Ende des Versuches	Besatzung	Auffüllg. n. Absorpt.	Verteilung	Röhrchen-No.	tofache Immun-Amboz	Endstück	Mittelstück	0,9-proz. NaCl	5-proz. Hammelblut	Ablesung nach 2 Std. 37°
1	1 ccm a. S. H + Gehirn-rinde	+	1,8	0,7	0,5	1,0	1 1,0	—	—	1,0	0,5	+	Spürchen
						1,0	2 1,0	—	1,0	—	0,5		”
						1,0	3 1,0	1,0	—	—	0,5		starke Lös.
2	1 ccm a. S. H + Hoden	+	1,6	0,9	0,2	1,0	4 1,0	—	—	1,0	0,5	+	Spch. — Spur
						1,0	5 1,0	—	1,0	—	0,5	+	Spürchen
						1,0	6 1,0	1,0	—	—	0,5		st. — kpl. Lös.
3	1 ccm a. S. H + Schild-drüse	+	1,6	0,9	0,4	1,0	7 1,0	—	—	1,0	0,5		wenig — mäß.
						1,0	8 1,0	—	1,0	—	0,5	+	”
						1,0	9 1,0	1,0	—	—	0,5		starke Lös.
4(5)	1 ccm a. S. W allein 37°	—	1,5	1,0	0,5	1,0	10 1,0	—	—	1,0	0,5		Spur — Spch.
						1,0	11 1,0	—	1,0	—	0,5		”
						1,0	12 1,0	1,0	—	—	0,5		mäßig — stark
5(6)	1 ccm a. S. W allein	—	1,9	0,6	0,4	1,0	13 1,0	—	—	1,0	0,5		kompl. Lös.
						1,0	14 1,0	—	1,0	—	0,5		wenig
						1,0	15 1,0	1,0	—	—	0,5		kompl. Lös.
6(7)	1 ccm a. S. Wo 37°	—	1,4	1,1	0,6	1,0	16 1,0	—	—	1,0	0,5	+	”
			Unbeeinfl. akt. S. H			1,0	17 1,0	—	1,0	—	0,5	+	”
						1,0	18 1,0	1,0	—	—	0,5	+	”
			1,0 akt. S. W	1,5	0,5	1,0	19 1,0	—	—	1,0	0,5		kompl. Lös.
			1,0 akt. S. Wo	1,5	0,5	1,0	20 1,0	—	—	1,0	0,5		„
			1,0	1,5	0,5	1,0	21 1,0	—	—	1,0	0,5		„
							22 1,0	—	—	2,0	0,5		+
							23 1,0	—	1,0	1,0	0,5		+
							24 1,0	1,0	—	1,0	0,5		wenig — mäß.
							25 —	—	—	3,0	0,5		+
							26 —	—	1,0	2,0	0,5		+
							27 —	1,0	—	2,0	0,5		+
							28 1,0	1,0	1,0	—	0,5		kompl. Lös.
							29 —	1,0	1,0	1,0	0,5		+

Der Versuch zeigt, daß auch bei Anwendung hoher Immunambozeptordosen doch das Komplement fast ganz unwirksam ist. Auch hier wird nur durch Endstückzusatz eine leichte Komplementrestitution erzielt. Um die Hemmung des Mittelstücks zu beheben, wurde in den nächsten Versuchen sensibilisiert, d. h. es wurde vor Hinzufügung des Mittelstücks dieses in dem entsprechenden Verhältnisse durch $\frac{1}{2}$ Stunde

Tabelle XII.

Nach Anstellung des Dialyserversuches mit Serum M. werden die Hülseinhalt gemessen, besalzen, auf 3 ccm aufgefüllt, in 3 Röhrchen verteilt. Meerschweinchenserum war in seine Bestandteile zerlegt worden; Endstück wurde direkt zugesetzt, Mittelstück mit 5-proz. Hammelblut im Verhältnis 2 : 1 gemischt und $\frac{1}{2}$ Stunde persensibilisiert, dann erst zugesetzt. Kontrollen wie früher.

Hülsen-No.	Inhalt zu Beginn des Dialyserversuches	Ninhydrinreaktion	Messung am Ende d. Dialyserversuches	Besatzungsflüssigk. 0,9-proz. NaCl	Verteilung Röhrchen-No.	0,9-proz. NaCl	Endstück	Mittelstück + 5 proz. Hammelblut 2 : 1	5-proz. Hammelblut	5-proz. Komplement	Ablesung nach 2 Std. Brutschr. und 16 Std. Eisschrank
1	1 ccm a. S. + Gehirnrinde	schw. +	1,4	1,1 0,5	1,0 1 1,0 2 1,0 3	1,0 — — — — 1,0	— — — — 1,0 —	— 1,5 — — — 0,5	0,5 — — — 0,5 —	— —	θ Spürchen wenig
2	1 ccm a. S. + Ovarium	?—θ	1,6	0,9 0,5	1,0 4 1,0 5 1,0 6	1,0 — — — — 1,0	— — — — 1,0 —	— — 1,5 — — 0,5	— — — — 0,5 —	— —	θ Spur wen.—mäß.
3	1 ccm a. S. + Schilddrüse	?—θ	1,25	1,3 0,5	1,0 7 1,0 8 1,0 9	1,0 — — — — 1,0	7 1,0 — — — 1,0	— — — — — 0,5	0,5 — — — 0,5 —	— —	θ Spur st.—kp.Lös.
4	1 ccm a. S. + Placenta	θ	1,5	1,0 0,5	1,0 10 1,0 11 1,0 12	1,0 — — — — 1,0	1,0 — — 1,5 — 0,5	— — 1,5 — — 0,5	0,5 — — — 0,5 —	— —	θ Spur stark
5	1 ccm a. S. allein	θ	2,0 Unbeeinfl. inakt. Ser. 0,33 inakt. Ser. 0,33 inakt. Ser. 0,33 akt. Ser. 0,33 akt. Ser. 0,2	0,5 0,5 0,67 0,67 0,67 0,67 0,8	1,0 13 1,0 14 1,0 15 1,0 16 1,0 17 1,0 18 1,0 19 1,0 20 21 22 23	1,0 — — — — 1,0 — 1,0 — — — — 1,0 — 1,0 — 1,0 — 1,0 — 1,0 — 1,1	— — — 1,5 — 1,0 — 1,0 — 1,5 — — — — — — — 1,5 — 1,5 — 1,5	— — — 0,5 — 0,5 — 0,5 — — 0,5 1,0 — — — — — — — — — —	— — — — — — — — — — 1,0 f. — kompl. — — — — —	θ Spch. — Sp. stark θ θ f. kpl. Lös. kompl. Lös. „mäßig“ θ θ	

mit dem Hammelblut bei 37° gemischt gehalten und diese Mischung dann zu den Proben hinzugefügt. Ein solches Beispiel gibt der in Tabelle XII (siehe p. 284) dargestellte Versuch.

Wir sehen in diesem Versuche wieder, daß der Endstückzusatz vor allem zur Restitution des Komplements beitragen kann, der Mittelstückzusatz nur in sehr geringem Maße. Daß nicht das Wiederauftreten von Hämolyse beim Endstückzusatz als eine Folge der Reaktion zwischen Normalambozeptor und Endstück anzusehen ist, sehen wir in Röhrchen 16 wieder bewiesen. Schließlich haben wir uns nochmals die Frage vorgelegt, ob die Komplementbestandteile des eigenen oder fremden, oder die des Meerschweinchenserums wirksamer restituierend eintreten. Ein solcher Versuch zeigt sich in Tabelle XIII (siehe p. 286).

Aus diesem Versuche scheint sich zu ergeben, daß die aus dem Menschenserum hergestellten Komplementbestandteile zur Restitution der Komplementwirkung geeigneter sind, als Meerschweinchenend- und -mittelstück. Im übrigen ergibt sich hier keine Bevorzugung des Endstückes, so daß wir zu dem Schlusse kommen, daß wohl beide Komplementbestandteile während des Dialyserversuches geschädigt werden, wobei freilich die Herabsetzung der Endstückwirkung vorwiegt; die Restitution gelingt leichter durch Hinzufügung von Komplementbestandteilen des Menschenserums, ohne daß das eigene Serum sich durch besondere Reaktivierungskraft auszeichnet. — Es ist klar, daß zur weiteren Durchforschung der hier vorliegenden Verhältnisse noch weitere Versuchsreihen nötig sind; diese werden von uns auch fortgesetzt, sie sind aber durch die infolge des Krieges erwachsenen Schwierigkeiten sehr verzögert. Da die berichteten Versuche aber bis zu einem gewissen Abschlusse gelangt sind, sind sie hier mitgeteilt worden und werden im 3. Teile im Zusammenhang besprochen werden.

Tabelle XIII.

Zwei Seren werden zum Dialyserversuch angesetzt und die gleichen Seren nach Sachs und Altmann gespalten; zu gleicher Zeit wird auch frisches Meerschweinchenserum gespalten. Der übrige Versuch wird wie

19*

früher angesetzt unter Hinzufügung der doppelten Immunambozeptordosis.
Auffüllung auf 5 ccm.

Hülsen-No.	Inhalt zu Beginn des Dialysierversuches	Ninhydrinreaktion	Messung am Ende d. Dialysierversuchs	Be-salzungsf-lüssigkeit	0,9-proz. NaCl	Verteilung	Röhrchen-No.	0,9-proz. NaCl	Mittelstück 4275+5-proz. Hammelblut 2:1	Mittelstück 4276+5-proz. Hammelblut 2:1	Mittelstück Meerschw.+ 5-proz. Hammelblut 2:1	Endstück 4275	Endstück 4276	Endstück Meerschw.	2-fache Imm.-Amb.	Hammelbl. 5-proz.	Komplement 5-proz.	Ablesung nach 2 Std. 37°
1	1 ccm a. S. 4275 + Gehirn-rinde	θ	1,5	1,0	2,5	1,0	1 2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ — Spürch. wenig
						1,0	2 —	1,5	—	—	1,0	—	—	—	—	—	—	θ — Spürch. mäßig
						1,0	3 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	θ
						1,0	4 1,0	—	—	—	1,0	—	—	—	—	0,5	—	θ
						1,0	5 1,0	—	—	—	—	—	—	1,0	—	0,5	—	θ
2 (2)	1 ccm a. S. 4275 + Gehirn-mark	θ	1,4	1,1	2,5	1,0	6 2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
						1,0	7 —	1,5	—	—	1,0	—	—	—	—	—	—	wenig
						1,0	8 1,0	—	—	—	1,0	—	—	—	—	0,5	—	mäßig
						1,0	9 1,0	—	—	—	—	—	1,0	—	—	0,5	—	θ — Spürch.
						1,0	10 1,0	—	—	—	—	—	—	1,0	—	0,5	—	θ
3 (5)	1 ccm a. S. 4275 + Neben-niere	θ	1,7	0,8	2,5	1,0	11 2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	st.—kp.Lös.
						1,0	12 —	1,5	—	—	—	—	—	1,0	—	—	—	θ
						1,0	13 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	θ — Spürch.
						1,0	14 1,0	—	—	—	—	—	—	1,0	—	0,5	—	θ
						1,0	15 1,0	—	—	—	1,5	—	—	—	—	—	—	θ
4 (10)	1 ccm a. S. 4276 + Schild-drüse	schw. +	1,2	1,3	2,5	1,0	16 2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
						1,0	17 —	1,5	—	—	1,0	—	—	—	—	—	—	θ
						1,0	18 1,0	—	—	—	1,5	—	—	—	—	—	—	st.—kp.Lös.
						1,0	19 1,0	—	—	—	—	—	1,0	—	—	0,5	—	Spch. — Sp.
						1,0	20 —	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	θ
5 (12)	1 ccm a. S. 4276 allein	θ	1,4	1,1	2,5	1,0	21 2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
						1,0	22 1,0	1,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	θ
						1,0	23 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	θ — Spürch.
				No. Unbeeinfl.		1,0	24 1,0	—	—	—	1,5	—	—	—	—	—	—	θ
				4275 akt. Ser.		1,0	25 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
				0,2	0,8	1,0	26 2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	kompl. Lös.
				4276 akt. Ser.		0,8	1,0 27 2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	„ „
				0,2	0,8	1,0	28 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	1,0	θ
				4275 inakt. Ser.		0,8	1,0 29 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
				0,2	0,8	1,0	30 1,0	—	—	—	—	—	1,0	—	—	0,5	—	θ
				4275 inakt. Ser.		0,8	1,0 31 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
				0,2	0,8	1,0	32 1,0	—	—	—	—	—	—	1,0	—	0,5	1,0	θ — Spürch.
				4276 inakt. Ser.		0,8	1,0 33 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
				0,2	0,8	1,0	34 1,0	—	—	—	—	—	1,0	—	—	0,5	—	θ
				4276 inakt. Ser.		0,8	1,0 35 1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—	θ
				0,2	0,8	1,0							1,0	—	—	0,5	—	θ

Eine Reihe kleinerer Versuche, die zu unserem Thema in inniger Beziehung stehen, seien hier noch berichtet. Da wir im vorhergehenden dargestellt, wie die Wirksamkeit des Komplements im Verlaufe des Versuches nach Abderhalden erlischt oder schwer geschädigt wird, lag es uns nahe, zur Klärung der von den verschiedenen Forschern berichteten Reaktivierungsversuche inaktiver Sera und des Urinversuches zu bedienen. Da wir nachgewiesen hatten, daß bei genügender Vordialyse gegen fließendes Wasser sich der eiweißfreie Urin in den Dialysiersuch einstellen läßt und ähnliche Resultate ergibt, wie das Blutserum, andererseits der Urin kein Komplement enthält, war es naheliegend durch Hinzufügung von aktivem Urin zum inaktiven Serum und umgekehrt die Wiederherstellung der proteolytischen Wirkung zu erzielen. Zum näheren Verständnis sei der folgende Versuch (Tabelle XIV) angeführt. Ein einwandfreies Resultat

Tabelle XIV.

Bei Urine 4246 und 4247 zeigen, 6 Stunden vordialysiert, die Sera 4250 und 4251 ohne Vordialyse das folgende Verhalten:

Organ	Urin 4246 6 Std. vordial. aktiv 1 ccm	Urin 4247 6 Std. vordial. aktiv 1 ccm	Serum 4250 aktiv 1 ccm	Serum 4251 aktiv 1 ccm
Gehirnrinde	+	+	θ	? — θ
Gehirnmark	?	? — θ	θ	? — θ
Hoden	θ — ?	?	θ	? — schw. +
Schilddrüse	θ	θ	θ	? — schw. +
Nebenniere	θ	θ	θ	θ
Kontrolle	θ	θ	θ	θ

Es wird nun der Urin 4246 (6 Stunden vordialysiert) $\frac{1}{2}$ Stunde auf 52° erhitzt (A) und angesetzt

- 0,5 A + 0,5 akt. Serum 4250 + Gehirnrinde 1)
- 0,5 A + 0,5 „ „ 4250 2)
- 0,5 A + 0,5 0,9-proz. NaCl 3)

dann wird das komplementhaltige Serum 4251 $\frac{1}{2}$ Stunde auf 52° erhitzt (B), wodurch das Komplement fast völlig zerstört wird, und angesetzt

- 0,5 B + 0,5 akt. Urin 4247 + Schilddrüse 4)
- 0,5 B + 0,5 „ „ 4247 5)
- 0,5 B + 0,5 0,9-proz. NaCl 6)

Die Mischungen 1—6 kommen in Dialysierhülsen und werden 16 Stunden bei 37° gegen 20 ccm destilliertes Wasser dialysiert.

Hülsen-No.	Ninhydrin- reaktion	Verf.	Hülsen-No.	Ninhydrin- reaktion	Verf.
1	?	schw. +	4	?	+
2	schw. +	+	5	0	schw. +
3	0	0	6	0	0

wurde nicht erhalten, da Serum + Urin schon positiv reagierte, doch scheint die Differenz zwischen 4 und 5 immerhin im Sinne einer Reaktivierung verwertbar. Auch diese Versuche werden fortgesetzt.

In Konsequenz der eingangs geäußerten Ansichten verschiedener Forscher über die Analogie der Vorgänge bei der A. R. mit jenen beim Anaphylatoxinversuch stellten wir Versuche an, dahin gehend, ob am Ende des Dialysierversuches in der Hülse selbst nicht dialysable giftige Stoffe entstanden sind. (Die Ungiftigkeit der Dialysate ist von anderer Seite schon festgestellt.) Darüber berichtet der folgende Versuch (Tabelle XV).

Tabelle XV.

Es wurde mit dem Serum W. die A. R. angesetzt, und zwar mit Hoden und Serum allein. Nach dem normalen Ablauf des Versuches wurden die Hülseninhalte nach Befreiung von allen Organteilen Kaninchen in die Ohrvene eingespritzt. Zur Kontrolle wurde 1 ccm unbeeinflussten Serums ebenso verwendet.

Hülseninhalt No.	Ninhydrin- reaktion	Intravenöse Injektion in Kaninch.-No.	Krankheits- erscheinungen
1 (+ Hoden)	0 — ?	7	keine
2 (Serum allein)	0	8	„
3 (unbeeinfl. Ser.)	0	13	„

Das dialysierte Serum allein, wie das mit Hoden dialysierte enthält also nach Ablauf der A. R. keine Stoffe, die unter den gegebenen Bedingungen giftig wirken. Wegen des großen Tiermangels mußte eine weitere Fortsetzung dieser Versuche eingestellt werden.

Ferner unterzogen wir Plauts neuerdings veröffentlichte Versuche, die physikalisch-chemischen Beziehungen zwischen Organ und Serum zu klären, einer Nachprüfung (Tabelle XVI).

Tabelle XVI.

Es wurden nach Abderhalden fertig gemachte Organe, die wir schon längere Zeit aufbewahrt hatten, ohne und mit neuerlichem Kochen nach der Plautschen Versuchsanordnung untersucht. Ferner wurden Organe, die 16 Stunden mit Serum bei 37° dialysiert worden waren, in gleicher Weise untersucht.

Organ	Eigenschaft	1-proz. Hammelblut	Ablesung nach 2 Std. 37° u. 20 Std. Zimmertemperatur
Hoden	nicht neuerlich gekocht	2,0	Spur — wenig
Gehirnrinde	dgl.	2,0	θ — Spürchen
Schilddrüse	"	2,0	starke Lösung
Hoden	neuerlich 3×15 Min. gekocht	2,0	θ — Spürchen
Gehirnrinde	dgl.	2,0	θ
Schilddrüse	"	2,0	θ
Gehirnrinde	nach 16-stünd. Dialyse mit Serum bei 37°	2,0	θ
Gehirnmark	dgl.	2,0	θ
Ovarium	"	2,0	θ
Schilddrüse	"	2,0	θ
Nebenniere	"	2,0	θ

Der Versuch ergibt eine Bestätigung der Plautschen Untersuchungen. Die Organe aus dem Dialyserversuch zeigen keinerlei hämolytische Kraft.

Angeschlossen wurde noch ein Versuch, der dartun sollte, ob nach Abderhalden versuchsfertig gemachte Organteile, im Reagenzglas bei 37° mit Serum digeriert, auf das Eigenkomplement des Serums einwirken.

Tabelle XVIa.

Es wird das aktive Serum F. allein (0,5) und mit Ovarium und Hoden (je 0,6), das aktive Serum S. allein (0,5) und mit Hoden (0,6) im Reagenzglas 16 Stunden bei 37° bebrütet. Nach Ablauf dieser Zeit wird der Komplementgehalt des Serums in den Dosen 0,3 und 0,2, sowie jene der unbeeinflussten aktiven Sera in denselben Dosen bestimmt.

Akt. Ser.	0,9-proz. NaCl	5-proz. H.-Bl.	Ser. F. allein 2 Std. 37°	Ser. F. + Ov. 2 Std. 37°	Ser. F. + Hd. 2 Std. 37°	Ser. S. allein 2 Std. 37°	Ser. S. + Hd. 2 Std. 37°	Ser. F. unbe- einflußt 2 Std. 37°	Ser. S. unbe- einflußt 2 Std. 37°
0,3	0,2	0,5	Spch.	ø bis Spch.	Sp.	ø bis Spch.	wenig	k. L.	k. L.
0,2	0,3	0,5	ø bis Spch.	ø bis Spch.	Spch.	ø bis Spch.	Sp	k. L.	k. L.

Durch die nach Abderhalden versuchsfertig bereiteten Organe wird also im Reagenzglas eine komplementschädigende Wirkung nicht hervorgerufen.

Wesentlich waren für uns schließlich noch weitere Untersuchungen nach den von M. Fraenkel angeregten Richtungen hin, vor allem nach dem Verhalten des Hülseinhaltes und Dialysats am Ende der A. R. zur Wassermannschen Reaktion. Es zeigte sich in Uebereinstimmung mit Fraenkel, daß Wassermanns negative Sera nach 16 Stunden oft Selbsthemmung, in seltenen Fällen auch positive Wassermannsche Reaktion zeigten, freilich erst in höheren Mengen, und zwar unabhängig davon, ob mit oder ohne Organ dialysiert worden war und unabhängig davon, ob die Ninhydrinreaktion positiv oder negativ war. Aktive und inaktive Sera zeigten ganz ähnliche Verhältnisse, zumal es ja am Ende des Versuches nur inaktive Sera gibt. Nach den vorausgehenden Untersuchungen ist auch verständlich, daß diese Phänomene nicht bei allen Seren einheitlich auftreten. Mit ganz besonderer Sorgfalt wurde das Verhalten des Dialysats in dieser Beziehung geprüft; hatte doch M. Fraenkel mitgeteilt, daß das Dialysat bei positiver, wie auch bei negativer A. R., ja selbst jenes der aktiven Serumkontrolle in inaktivem Zustande bei 100 Proz. eine positive Wassermannsche Reaktion zeigt. Fraenkel hatte angenommen, daß Eiweißzerfallsprodukte die Ursache dieses biologischen Verhaltens darstellen und daß auch ohne Organzusatz „so viele Eiweißabbaustoffe, die normalerweise im Serum vorhanden sind oder durch autolytische Prozesse während des Aufenthaltes im Brutschrank entstehen, in die Außenflüssigkeit“ übergehen, „daß durch sie bei der Wassermannschen Reaktion die Hämolyse gehemmt wird“. Er teilte ferner mit, daß der Zusatz verschiedener Mengen von Dialysat zu einem Wasser-

mann-negativen Serum positive Wassermannsche Reaktion hervorruft.

Es schien uns nun von vornherein auffallend, daß in Fraenkels Protokollen die Wassermannsche Reaktion in den Dialysaten von nach Abderhalden positiv, wie negativ reagierenden Seren, wie von Serumkontrollen gleich stark war, während doch die durch die Ninhydrinreaktion angezeigte Menge von Eiweißzerfallsprodukten in den Dialysaten eine sehr verschiedene ist. Wir konnten nun Fraenkels Befunde dahin bestätigen, daß alle Dialysate nach Anstellung der A. R. bei 100 Proz. in inaktivem Zustande mittelstarke bis starke Wassermannsche Reaktion, in aktivem das gleiche Ergebnis oder schwache Selbsthemmung zeigen. Wenn wir nun nicht gegen destilliertes Wasser, sondern gegen 0,9-proz. NaCl-Lösung dialysierten, war die Wassermannsche Reaktion des Dialysats negativ. Setzten wir aber 0,9-proz. NaCl-Lösung als Hülseininhalt und destilliertes Wasser als Außenflüssigkeit an, so zeigten sich nach 16-stündiger Dialyse die gleichen Ergebnisse, wie bei der Verwendung von Serum. Wir mußten daher daran denken, daß andere Faktoren, besonders die Salzarmut des Dialysats an der Hervorrufung des Wassermannschen Phänomens zumindest mitbeteiligt sind. Zu dem Zwecke untersuchten wir, wie sich Lösungen verschiedenen Salzgehaltes verhalten, wenn sie in der üblichen Weise in die Wassermannsche Versuchsanordnung eingeführt werden (Tabelle XVII).

Tabelle XVII.

Wassermannsche Reaktion verschiedener Salzlösungen.

Flüssigkeit	aktiv						inaktiv					
	mit Extrakt			ohne Extrakt			mit Extrakt			ohne Extrakt		
	0,5	1,0	2,0	0,5	1,0	2,0	0,5	1,0	2,0	0,5	1,0	2,0
Aqua dest.	inc.	+++	+	0	0	0	0	+++	+	0	0	0
0,1-proz. NaCl-Lös.	0	++	+++	0	0	0	0	+++	+++	0	0	0
0,2 " "	0	+	+++	0	0	0	0	+	+++	0	0	0
0,3 " "	0	0	++	0	0	0	0	0	+++	0	0	0
0,4 " "	0	0	+	0	0	0	0	0	++	0	0	0
0,5 " "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6 " "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,7 " "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,8 " "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Diese Tabelle zeigt uns also, daß von 0,4-proz. NaCl-Lösungen an bei 2,0 = 200 Proz. positive Wassermannsche Reaktion im aktiven, wie inaktiven Zustande auftritt, von 0,2-proz. Lösungen an auch bei 1,0 = 100 Proz.; 0,1-proz. Lösungen verhalten sich ganz gleich wie die Dialysate. Bei Einstellung von destilliertem Wasser tritt bei höheren Mengen leichte Selbsthemmung im aktiven Versuche ein. Da wir nach vorausgehenden Ueberlegungen genötigt sind, anzunehmen, daß am Ende des Dialyserversuches das Dialysat eine Salzkonzentration hat, die ungefähr zwischen destilliertem Wasser und 0,1-proz. NaCl-Lösung die Mitte hält (nach unseren Berechnungen ungefähr 0,045 Proz.), so ist tatsächlich eine Uebereinstimmung zwischen der Reaktion des Dialysats und jener sehr niedriger Salzlösungen hergestellt. Um einen weiteren Beweis für unsere Annahme zu haben, wiederholten wir die Versuche mit den Dialysaten nach vorhergehender Besalzung derselben. Nun reagierten alle im aktiven bis inaktiven Zustande bis zu einer Menge von 2,0 = 200 Proz. negativ. So war also der Beweis erbracht, daß tatsächlich die Salzarmut des Dialysats die hauptsächliche, wenn nicht einzige, Ursache für das Zustandekommen der positiven Wassermannschen Reaktion bildet. Auch die weiteren Versuche Fraenkels, in denen er durch Hinzufügen von Dialysat zu einem Wassermann-negativen Serum positive Wassermannsche Reaktion erhielt, lassen sich dadurch erklären, daß man aus jedem Wassermann-negativen Serum durch Verdünnen mit 200 Proz. destillierten Wassers, besser noch mit größerer Menge ein Wassermann-positives Serum erhalten kann. Daß Eiweißendprodukte bei diesen Vorgängen ebenfalls eine Rolle spielen, ist nicht wahrscheinlich.

III. Zusammenfassung.

Wie sich aus unseren Versuchen ergibt, haben wir uns zur Aufgabe gemacht, einige Fragen bezüglich der Vorgänge während des Ablaufes des Dialyserversuches nach Abderhalden zu klären, wobei wir uns so streng wie möglich an die Abderhaldensche Versuchsanordnung selbst ange-

schlossen und uns bemüht haben, uns von nicht genügend gestützten Hypothesen und Analogieschlüssen fernzuhalten. Wir haben gefunden, daß die besonderen Bedingungen, unter denen der Hülseninhalt im Abderhaldenschen Versuch steht, befähigt sind, in dem zur Dialyse angesetzten Serum greifbare Veränderungen hervorzurufen. Serum wie Dialysat stellen am Ende des Versuchs in bezug auf den Salzgehalt ziemlich gleich, und zwar sehr niedrig konzentrierte Flüssigkeiten dar, wobei sich der Hülseninhalt durch Wasseraufnahme vermehrt, das Dialysat durch Wasserabgabe vermindert hat. Als Ursache für die letztere Erscheinung spielen neben den osmotischen Vorgängen zufällige Bedingungen, die geeignet sind, den Spiegel der Außenflüssigkeit zu verändern, eine Rolle. In einzelnen Fällen bieten die Hülsen insofern eine bisher nicht bekannte Fehlerquelle dar, als die Durchgängigkeit von außen nach innen erhöht erscheint, ohne daß diese Eigenschaft durch die bisher üblichen Eichungsmethoden ans Licht käme. Es empfiehlt sich daher, zur Eichung auch 0,9-proz. Kochsalzlösung zu verwenden und die Hülseninhalte am Ablauf des Versuches zu messen, etwa in der Art, wie wir sie demonstriert haben; ungeeignete Hülsen sind auszuscheiden, und es ist überhaupt notwendig, auch die Außenflüssigkeit stets genau zu messen und möglichst gleichmäßige Hülsen wie Kölbchen zu verwenden.

Durch die Wasseraufnahme und Salzarmut des Serums werden nun auch wichtige biologische Veränderungen desselben bewirkt. Während der hämolytische Normalambozeptor meist vollkommen intakt bleibt, ist das Eigenkomplement am Ende des Dialyserversuches nicht mehr oder nur in Spuren nachweisbar; seine Wirksamkeit ist schon nach 1 bis 2-stündiger Dialyse deutlich herabgesetzt. Die Komplementschädigung ist die gleiche, ob sich in der Hülse Serum + Organ oder Serum allein befunden hatte, ob die Ninhydrinreaktion des Dialysats positiv oder negativ gewesen war. Als

Ursache für diesen Komplementtod ist neben der Salzarmut des Serums (Sachs und Teruuchi) auch die langdauernde Einwirkung der Temperatur von 37° anzusehen, und es scheint nach unseren Versuchen der Einfluß jeder der beiden Faktoren bei verschiedenen Seren ein verschieden starker zu sein. Eine Wiederherstellung der Wirksamkeit des Komplements durch geeignete Besatzung des Hülseninhaltes ist nicht möglich. Durch Hinzufügung der Komplementbestandteile kann eine geringfügige Restitution erzielt werden und zwar anscheinend in erster Linie durch Einführung von Endstück, wobei wieder Menschenendstück vorgezogen wird. Doch verhalten sich auch nach dieser Richtung hin die Seren sehr verschieden. Wir müssen also annehmen, daß während des Abderhaldenschen Dialyserversuches eine Schädigung beider Komplementbestandteile, besonders aber des Endstückes auftritt. — Als Folge der Salzarmut des Hülseninhaltes und Dialysats konnten wir auch das Verhalten beider Flüssigkeiten zur Wassermannschen Reaktion erweisen.

Wir konnten also die Komplementierung nicht als Ursache der in manchen Versuchen gelungenen Wiederherstellung der abbauenden Kraft des inaktivierten Serums ansehen, wovon noch ausführlich die Rede sein wird, und mußten mit Abderhalden an Fermentaktivatoren denken. Um dieser Frage näher zu treten, haben wir untersucht, wie weit vordialysierter Urin befähigt ist, die Wirksamkeit des bei 52° inaktivierten Serums zu restituieren. In unseren Versuchen ist uns dies nur einmal in mäßigem Grade gelungen; immerhin setzen wir diese Untersuchungen fort.

Schließlich galten unsere weiteren Versuche den physikalisch-chemischen, besonders den Anaphylatoxinthorien. Im Tierversuche konnten wir nachweisen, daß sich am Ende des Dialyserversuches im Hülseninhalt giftige, nicht dialysable Stoffe in größerer Menge nicht vorfinden. Die Untersuchungen F. Plaunts, die die physikalisch-chemische Einwirkung der Substrate auf das Serum durch

Demonstration der durch Serum aufhebbaren Beeinflussung roter Blutkörperchen durch nach Abderhaldens Vorschriften hergestellte Organe beleuchten sollen, konnten wir bestätigen.

Wenn wir nun zur Besprechung unserer Ergebnisse kommen, so müssen wir an die Spitze setzen, daß das, was wir schon in der Einleitung angedeutet haben, sich voll bestätigt, daß sich nämlich Erkenntnisse, die für den Ablauf einer Reaktion zwischen zwei Körpern im Reagenzrohr Gültigkeit haben, nicht ohne weiteres auf die Vorgänge in der Dialysierhülse übertragen lassen; denn hier kommt es zur Einwirkung äußerer Kräfte, die den Hülseinhalt wesentlich verändern. Eine der wichtigsten Folgen dieser Verhältnisse ist das Unwirksamwerden des Komplements. Da dieses schon nach 1—2 Stunden nachweisbar ist, und kein Unterschied besteht, ob die Hülse mit Serum und Organ oder ohne letzteres besetzt ist, ob die Ninhydrinreaktion negativ oder positiv ist, müssen wir die Annahme Stephans und anderer Autoren, daß der Reaktionskörper Ambozeptornatur hat und zum Zustandekommen der A. R. Komplement notwendig ist, ablehnen. Gegen diese Annahme sprechen außerdem noch viele andere Gründe. Der hämolytische Normalambozeptor wird durch $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf 56° meist nur sehr geringfügig geschädigt, während alle Autoren, die sich mit Reaktivierungsversuchen beschäftigten, gefunden haben, daß der hypothetische eiweißspaltende Ambozeptor bei so starker Erhitzung in seiner Wirkung eingeschränkt werden kann, und daher empfehlen, zur Inaktivierung geringere Temperaturen, wie 52° , anzuwenden. Andererseits hat Lange berichtet, daß auch auf 56° erhitztes Serum positive Reaktion geben kann. Jobling und Petersen machen deshalb geltend, daß wohl die Nichtbeteiligung des Komplements bei der A. R. dadurch erwiesen ist, und daß der hierbei eine Rolle spielende Reaktionskörper den Proteasen ähnelt, die bei $56-60^{\circ}$ zwar abgeschwächt, aber nicht vernichtet werden. Stephan und Hauptmann zogen ferner zu ihren Schlüssen die Tatsache heran, daß man oft negative A. R. in Fällen erhält, bei denen im Blut wirksames Komplement

ment nicht nachzuweisen ist. Ein solcher Parallelismus ist uns bisher nicht begegnet. Schließlich spricht ein Phänomen gegen die Ambozeptornatur des Abderhaldenschen Reaktionskörpers und die Mitbeteiligung von Komplement, daß es nämlich gelingt, mit vordialysiertem eiweißfreien Urin und Organeiweiß eine positive A. R. zu erzielen bei negativer Urinkontrolle. Im Urin ist Komplement nicht nachweisbar. Wenn daher eine Wiederherstellung der Wirksamkeit inaktiven Serums durch frisches Serum berichtet wird, muß man zum sicheren Beweis einer stattgehabten Aktivierung eine peinlich genaue Versuchsanordnung mit allen ordentlichen Kontrollen verlangen; als Erklärung wird man aber nicht Komplementwirkung, sondern die Tätigkeit von Fermentaktivatoren heranziehen müssen.

Mit der Erkenntnis, daß im Verlaufe des Abderhaldenschen Dialyserversuches das Komplement des Serums unwirksam wird, müssen auch jene Theorien fallen, die nach Analogie der Versuche von Friedberger, wie von Wassermann und Keysser annehmen, daß das Komplement bei dem Abbau des eigenen Serumeiweißes beteiligt ist. Diese führen uns auch zu den schon in der Einleitung angeführten Erklärungsversuchen der A. R. nach Analogie des Anaphylatoxinphänomens durch physikalisch-chemische Kräfte, indem die bei der A. R. zur Verwendung kommenden Organsubstrate als Sitz von Adsorptionskräften angesehen werden. Wir wollen hier, um nicht zu ausführlich zu werden, nur auf die Versuche von F. Plaut näher eingehen. Der genannte Autor hat durch Hinzufügung von adsorptionskräftigen anorganischen Stoffen zum Serum positive Ninhydrinreaktion des Dialysats in einer Reihe von Fällen erhalten. Er dachte an Additionswirkung, zumal er die Reaktion besonders bei Fällen von Dementia praecox positiv fand, bei denen der Gehalt an mit Ninhydrin reagierenden Stoffen im Serum an sich ein größerer ist. Berner hat Plautes Versuche nicht bestätigen können. Den schon in der eben angeführten Arbeit angenommenen Parallelismus der physikalisch-chemischen Einwirkung anorganischer Kolloide auf das Serum mit jener der Organsubstrate im Abderhaldenschen Versuch glaubte Plaut nun durch

weitere Untersuchungen erweisen zu können. Er zeigte, daß die nach Abderhalden zubereiteten Organe, wenn sie nicht vorher neuerlich gekocht waren, rote Blutkörperchen hämolysierten, ein Phänomen, das durch vorhergehende Digestion der Organe mit Serum aufgehoben werden konnte. Wurden die Organe neuerlich gekocht, so war ihre hämolytische Wirkung auf rote Blutkörperchen eine sehr geringe. Ueber die Folgerungen, die aus seinen Versuchen gezogen werden müssen, drückt sich F. Plaut nicht sehr ausführlich aus. Nimmt man an, daß tatsächlich die hämolytische Wirkung der nicht neuerlich gekochten Organsubstrate eine physikalisch-chemische ist — was noch nicht vollständig erwiesen erscheint — so ist doch weiterhin erwiesen, daß diese nach genügendem Kochen und völliger Entblutung auf ein Minimum herabsinkt, daß also im Abderhaldenschen Versuche selbst, zu dem eben nur in der erwähnten Weise vorbehandelte Organe genommen werden dürfen, die Adsorptionskräfte der Substrate eine sehr geringe Rolle spielen können. Plaut hat also durch seine eigenen Versuche, das, was er erweisen wollte, widerlegt. Hierher gehört auch noch eine zweite Beobachtung Plautes, „daß durch Eintrocknen die Organstückchen fast völlig ihre Fähigkeit zu hämolysieren verlieren“. Nun werden aber gerade Trockenorgane von vielen Autoren mit dem besten Erfolge bei Ausführung der A. R. verwendet. Auch ist die schon oben erwähnte Tatsache, daß es gelingt, mit vordialysiertem eiweißfreien Urin die A. R. hervorzurufen, ein strikter Beweis gegen die Annahme des Abbaues eigenen Serum-eiweißes. Wenn wir auch die Ergebnisse unserer Tierversuche auf das Vorhandensein von nicht-dialysablen giftigen Stoffen im Hülseninhalt am Ende des Abderhaldenschen Versuches (im Dialysat sind giftige Stoffe nicht nachgewiesen worden) hier noch nicht weiter verwerten wollen, so erscheinen uns nach allem die Hypothesen, die den Mechanismus der A. R. nach der Art der Anaphylatoxinbildung erklären wollen, nicht fruchtbar und nicht genügend gestützt. Physikalisch-chemische Einwirkungen der Substrate auf das Serum mögen vorhanden sein, sie spielen aber sicher keine bedeutende Rolle beim

Zustandekommen des Abderhaldenschen Phänomens. Es liegen aber heute genügend Beweise vor, daß diese Erscheinung in allererster Reihe durch Fermentwirkungen des Serums auf die Substrate, durch die der Abbau der letzteren erfolgt, zu erklären ist. Die weitere Forschung muß zeigen, ob es sich hierbei nur um organspezifische oder auch unspezifische Fermente handelt. So verdienstlich es sein mag, auch nach rein physikalisch-chemischen Vorgängen bei der A. R. zu forschen, so erscheint uns diese Arbeit unwesentlich gegenüber den anderen im Vordergrund stehenden Fragen.

Die Forscher, die von dem fermentativen Abbau des Organsubstrates durch das Krankenserum nichts wissen wollen, bleiben uns vor allem auch die Beantwortung einer Frage schuldig: wie man sich die bisherigen praktischen Resultate zu erklären hat? Da sich die von Plaut geltend gemachte Suggestivkraft der bekannten Diagnosen auf den Ausfall der Reaktion doch nur dort bemerkbar machen kann, wo die Diagnose eben bekannt ist — und das ist nach dem heutigen Arbeitsmodus unmöglich — ist es schlechterdings unerklärlich, warum bei Einstellung mehrerer Seren das eine Serum mit dem einen Organ positive, ein anderes Serum mit demselben Organ negative A. R. ergibt, warum dasselbe Serum mit dem einen Organ eine positive, mit dem anderen eine negative Ninhydrinreaktion zeigt. Hier ist uns von den Gegnern der Fermenttheorie noch keine ausreichende Erklärung abgegeben worden. Es werden die kompliziertesten Theorien, wie z. B. jene von De Waele, herangezogen, ohne daß dabei den wirklich vorliegenden Tatsachen Rechnung getragen wird. Es werden Umwege gegangen, und es erscheint doch der geradeste und auch nicht ungewöhnliche Weg jener der Einwirkung von Serumproteasen auf das Organeiweiß. Alle anderen Fragen scheinen sekundärer Natur zu sein. Erst wenn von allen Seiten auf gleichem Boden weitergearbeitet werden wird, wird es auch möglich sein, die technischen Fehlerquellen zu beseitigen und zu einer Einigung über den Mechanismus und die praktische Bedeutung der A. R. zu kommen.

Schl u ß s ä t z e.

A. Theoretischer Natur:

1) Durch die bei der A. R. eingeführten Versuchsbedingungen stellen Hülseninhalt und Dialysat am Ende des Versuches in bezug auf den Salzgehalt ungefähr gleich und zwar sehr niedrig konzentrierte Flüssigkeiten dar.

2) Der hämolytische Normalambozeptor ist am Ende des Versuches meist ungeschädigt erhalten.

3) Das Komplement ist nach Ablauf der A. R. nicht mehr oder (selten) nur in geringen Spuren nachzuweisen, gleichgültig, ob mit oder ohne Organ dialysiert worden war, ob die A. R. ein positives oder negatives Ergebnis hatte.

4) Die Wirksamkeit des Komplements ist durch Besalzung nicht wiederherstellbar.

5) Als Ursachen des Komplementschwundes sind sowohl die Salzarmut des Mediums, wie die langdauernde Einwirkung der Temperatur von 37° anzusehen; beide Faktoren scheinen, bei verschiedenen Seren verschieden stark wirksam zu sein.

6) Geschädigt sind beide Komplementbestandteile, das Endstück aber meist mehr als das Mittelstück.

7) Vordialysierter eiweißfreier Urin scheint zur Reaktivierung inaktiven Serums verwendbar zu sein.

8) Der Nachweis giftiger dialysabler Stoffe im Hülseninhalt am Ende der A. R. ist im Tierversuch bisher nicht gelungen.

9) Die Selbsthemmung oder komplementbindende Fähigkeit des Hülseninhaltes, wie die Wassermannsche Reaktion des Dialysats bei 100 Proz. nach Ablauf des Dialysierversuches ist die Folge der Salzarmut beider Medien; bei dem letzteren Phänomen spielen Eiweißspaltprodukte, wenn überhaupt, sicher keine irgendwie bedeutsame Rolle.

B. Praktischer Natur:

10) Es empfiehlt sich, bei der Anstellung der Reaktion nach Abderhalden auch die Außenflüssigkeit genau abzu-

messen und möglichst gleichmäßige Hülsen und Kölbchen zu benutzen.

11) Da einzelne Hülsen eine erhöhte Durchgängigkeit von außen nach innen haben, ohne daß sich dieses durch die bisherigen Eichungsmethoden bemerkbar macht, empfiehlt sich die Prüfung der Hülsen mit einer bestimmten Menge 0,9-proz. NaCl-Lösung als Hülseninhalt, die nach Ablauf des Versuches genau gemessen wird, wobei die gleiche Probe mit verschiedenen Kölbchen wiederholt werden soll.

Literatur.

- Abderhalden und Grigorescu, Med. Klinik, Bd. 10, No. 17.
Berner, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 15.
Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32.
Friedemann und Schönfeld, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 8.
Hauptmann, ebenda, 1914, No. 13.
Jobling und Petersen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24, Heft 3, p. 292.
Kafka, Med. Klinik, 1914, No. 30.
Lange, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 17.
Liefmann und Cohn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, p. 58.
Plaut, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 5.
— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24, Heft 4, p. 361.
Sachs und Nathan, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.
— und Teruuchi, ebenda, 1907, No. 16.
Steising, Münch. med. Wochenschr., 1913, No. 28.
Stephan, ebenda, 1914, No. 15.
De Waele, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 22, p. 107.

Nachdruck verboten.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. Karl Herxheimer).]

Ueber den Einfluß verschiedener Serumarten auf die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenkomplements durch Cobragift.

Von Dr. **Ernst Nathan**,
Assistenten der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Mai 1916.)

Nachdem die Untersuchungen von Flexner und Noguchi¹⁾, Noc²⁾, Morgenroth und Kaya³⁾ sowie H. Sachs⁴⁾ gezeigt hatten, daß das Cobragift komplementzerstörende Funktionen besitzt, suchte Braun⁵⁾ diese eigenartige Form der Komplementinaktivierung zu einer näheren Analyse der Natur des Komplements, bzw. seiner Bestandteile heranzuziehen. Dabei machte Braun die merkwürdige Beobachtung, daß bei Digestion von Cobragift mit absteigenden Mengen von Meerschweinchenserum in gleichem Volumen 3 Stunden vor dem Blutzusatz die Hämolyse nur in den größeren Mengen Meerschweinchenserum enthaltenden Proben ausblieb, während in den mit geringen Mengen von Meerschweinchenserum digerierten Gemischen partielle Lösung der roten Blutkörperchen eintrat. Zusatz von Endstück änderte an dem Resultat nichts Wesentliches, während Zusatz von Mittelstück zu einer völligen Restitution der Komplementwirkung führte. In der Kontrollreihe, in der unter sonst gleichen Versuchsbedingungen Meerschweinchenserum, Cobragift und Blut direkt miteinander gemischt worden waren, verlief dagegen die Hämolyse proportional den vorhandenen Meerschweinchenserummengen. Bei der gewählten Versuchs-

1) Flexner and Noguchi, The Journ. of exper. Med., Vol. 6, 1903.

2) F. Noc, Ann. Inst. Pasteur, T. 19, 1905.

3) J. Morgenroth und R. Kaya, Biochem. Zeitschr., Bd. 8, 1908.

4) H. Sachs, Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 9,

5) H. Braun, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911.

anordnung handelte es sich um eine durch Cobragift vermittelte Hämolyse, bei der als aktivierende Substanz nach den Untersuchungen von Kyes und Sachs¹⁾ lediglich der Komplementgehalt des Meerschweinchenserums in Frage kommen konnte.

Zur Erklärung des von ihm beobachteten paradoxen Versuchsausfalls nahm Braun zwei verschiedenartige, miteinander interferierende Prozesse an. Einerseits sollte das Komplement, und zwar lediglich das Mittelstück durch das Cobragift zerstört werden. Gleichzeitig sollte aber im Meerschweinchen-serum durch die Einwirkung des Cobragiftes auf die Serum-lipoide ein Hämolysin entstehen, wobei es allerdings schon Braun auffällig erschien, daß die Bildung dieses Hämolysins unter der Einwirkung des Cobragiftes nur bei bestimmter Konzentration des Meerschweinchenserums nachweisbar war.

Wenn auch die von Braun gegebene Deutung das Versuchsergebnis zunächst erklären zu können schien, so bot sie doch, wie Omorokow²⁾ hervorhebt, dem Verständnis gewisse Schwierigkeiten. Omorokow unterzog daher die Cobragiftwirkung einer nochmaligen Analyse, wobei insbesondere die Analogien, die zwischen den Beobachtungen Brauns und früheren Befunden von Sachs und Teruuchi³⁾ bestanden, maßgebend waren, und die auch für die Erklärung des Braunschen Versuches eine etwas andersartige Auffassung nahe-zulegen schienen.

Sachs und Teruuchi hatten nämlich bei ihren Studien über die Inaktivierung hämolytischer Komplemente im salzarmen Medium gefunden, daß die Inaktivierung des Komplements von der Konzentration des Meerschweinchenserums abhängig war, indem die Inaktivierung nur bei einer bestimmten optimalen Verdünnung des Serums eintrat, bei zu starker Verdünnung aber ausblieb. Es entstanden daher Versuchsreihen, die den von Braun mitgeteilten insofern äußerst ähnlich waren, als einer nicht oder wenig hämo-

1) P. Kyes und H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1903, No. 2/4.

2) L. Omorokow, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 10, 1911, H. 3.

3) H. Sachs und Y. Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 16/17 u. 19.

lytischen Anfangszone eine weitere Zone mit mehr oder minder starker Hämolyse folgte.

Wie in diesen Versuchen von Sachs und Teruuchi der Versuchsausfall nur von der jeweiligen Konzentration des Meerschweinchenserums bedingt erschien, ohne daß es nötig war, auf die Interferenz andersartiger Faktoren zu rekurrieren, so lag für die Erklärung des Braunschen Versuches in analoger Weise die Auffassung nahe, die beobachteten Unregelmäßigkeiten ebenfalls auf ein einheitliches Prinzip, nämlich eine verschieden starke Aufhebung der Komplementwirkung, zurückzuführen. Tatsächlich konnte Omorokow zeigen, daß auch die Komplementinaktivierung durch Cobragift von der Serumkonzentration abhängig ist, indem eine völlige Inaktivierung nur bei geeigneter Konzentration gelang, bei stärkerer Verdünnung des Meerschweinchenserums aber ausblieb, so daß die von Braun gerade bei geringerer Serumkonzentration beobachtete Hämolyse durch den Komplementgehalt des Serums, nicht aber durch ein neu entstandenes Hämolysin bedingt war.

Wenn die Serumkonzentration von so entscheidendem Einfluß auf die Cobragiftinaktivierung des Komplements war, so mußte es auch gelingen, bei solchen Konzentrationen des Meerschweinchenserums, bei denen wegen zu starker Verdünnung die anti-komplementäre Cobragiftwirkung nicht mehr in Erscheinung treten konnte, durch Zusatz andersartiger Sera und die dadurch bedingte Konzentrationsänderung eine Komplementinaktivierung herbeizuführen. Ueber derartige Versuche möchte ich mir im folgenden kurz zu berichten erlauben.

Zu den Versuchen dienten 1-proz. Stammlösungen von Cobragift¹⁾, und als Blutkörperchen Hammelblut in 7—8-proz. serumfrei gewaschener Suspension. Als Ambozeptor dienten von Kaninchen durch Immunisierung mit Hammelblut gewonnene inaktivierte Immunsera in 5—10-fach lösender Dosis, soweit die Versuche nicht, wie es zumeist geschah, lediglich unter Benutzung des im Cobragift enthaltenen, durch Serumkomplement kom-

1) Ich möchte nicht verfehlen, Herrn Prof. H. Sachs für die gütige Ueberlassung der nötigen Cobragiftmenge auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

plettierbaren hämolytischen Ambozeptors ohne Zusatz von Immunambozeptoren ausgeführt wurden.

Der Grad der Hämolyse ist in den Tabellen folgendermaßen notiert: k = komplette, fk = fast komplette, st = starke, m = mäßige, w = wenig, Sp = Spur, Spch = Spürchen, 0 = keine Hämolyse.

Um einen Einfluß des Serumzusatzes auf die Cobragift-inaktivierung des Komplements zu demonstrieren, wurde unter Verwendung von Menschenserumzusatz folgendermaßen verfahren:

Versuch I.

Absteigende Mengen von Meerschweinchenserum werden mit je 0,2 ccm 5-fach verdünnter 1-proz. Cobragiftlösung unter Zusatz von

- a) 0,25 ccm NaCl-Lösung,
- b) 0,25 ccm 10-fach verdünnten inaktivierten Menschenserums,
- c) 0,25 ccm 20-fach " " "
- d) 0,25 ccm 50-fach " " "

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert (Gesamtvolumen 0,7 ccm). Sodann erfolgt Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Kochsalzlösung (Gesamtvolumen 1,2 ccm).

e) In einer Kontrollreihe werden die gleichen Reagentien direkt gemischt. Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle I.

Tabelle I.

Menge des Meer- schweinchen- serums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Gemische von Meer- schweinchenserum und Cobragift unter Zusatz von				
	a	b	c	d	e
	Kochsalz- lösung	$\frac{1}{10}$ 0,25 Menschenserum	$\frac{1}{20}$ 0,25	$\frac{1}{50}$ 0,25	Kochsalzlösung (Kontrolle)
0,15	0	0	0	0	k
0,1	Spch	0	0	0	k
0,05	k	0	Spch	Spch	k
0,03	k	Spch	Spch	Spch	k
0,02	fk	Spch	Spch	Spch	fk
0	0	0	0	0	0

Die Tabelle zeigt in Kolumne a in Bestätigung der Angaben von Braun und Omorokow, daß bei Digestion absteigender Mengen von Meerschweinchenserum mit Cobragift die Inaktivierung nur bei den größeren Serumdosen eingetreten, bei den kleineren dagegen völlig ausgeblieben ist. Wie der Vergleich mit der Kontrollreihe e zeigt, ist bei den kleinen Dosen der Komplementgehalt in der hier befolgten Versuchsanordnung sogar quantitativ erhalten. Ganz anders

gestalten sich aber die Verhältnisse bei Zusatz von Menschenserum; wie die Kolonnen b, c und d der Tabelle zeigen, ist hier eine derartige Verstärkung der antikomplementären Wirkung des Cobragiftes eingetreten, daß es zu einer völligen oder fast völligen Aufhebung der Komplementfunktion gekommen ist.

Zur Demonstration dieser Verhältnisse seien noch einige weitere Versuchsbeispiele in verschiedener Versuchsanordnung mitgeteilt.

Versuch II.

Absteigende Mengen 1-proz. Cobragiftes werden mit je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums unter Zusatz von

- a) 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung,
- b) 0,25 ccm 10-fach verdünnten Syphilitikerserums (inaktiv),
- c) 0,25 ccm 10-fach verdünnten Normalmenschenserums (inaktiv),
- d) 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums (inaktiv)

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digefiert; sodann erfolgt Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblut und 0,25 ccm Kochsalzlösung (Gesamt volumen 1,2 ccm). In einem Parallelversuch wird den gleichen Gemischen das Hammelblut ohne vorherige Digestion zugesetzt.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion bei 37° zeigt die Tabelle II.

Tabelle II.

Menge des 1-proz. Cobra- giftes ccm	Hämolyse von Hammelblut durch digerierte Gemische von Cobragift und Meerschweinchen- serum unter Zusatz von				Hämolyse von Hammelblut durch Gemische von Cobragift und Meerschweinchenserum unter Zusatz von			
	a	b	c	d	a	b	c	d
	Koch- salz- lösung	Syphi- litiker- serum	Normal- mensch.- Serum	Meer- schw.- Serum	Koch- salz- lösung	Syphi- litiker- serum	Normal- mensch.- Serum	Meer- schw.- Serum
$\frac{1}{4}$ 0,2	fk	fk	0	0	k	k	k	k
$\frac{1}{8}$ 0,2	fk	0	0	0	k	k	k	k
$\frac{1}{16}$ 0,2	m	0	Sp	Spch	fk	k	k	fk
$\frac{1}{32}$ 0,2	w	Sp	st	Sp	w-m	k	k	w-m
$\frac{1}{64}$ 0,2	Sp	k	k	Sp	w-m	k	k	w-m
$\frac{1}{128}$ 0,2	Sp	k	k	Sp	Sp-w	k	k	Sp-w
$\frac{1}{256}$ 0,2	Sp	k	k	Sp	Sp	k	k	Sp
0	0	k	k	0	0	k	k	0

Betrachtet man zunächst die rechte Hälfte der Tabelle, bei der die einzelnen Reagentien ohne vorherige Digestion vor dem Blutzusatz direkt miteinander gemischt wurden, so zeigen die Kolonnen a und d, daß die Hämolyse parallel der

Cobragiftmenge verläuft, während in den Kolonnen b und c zu der hämolytischen Funktion des Cobragiftes noch die Wirkung der hämolytischen Normalambozeptoren hinzutritt, so daß es in der ganzen Reihe zu kompletter Hämolyse kommt, ohne daß, wie dies zu erwarten war, eine antikomplementäre Funktion des Cobragiftes wahrnehmbar ist.

Um so demonstrativer ist im Gegensatz hierzu die linke Hälfte der Tabelle, die das Versuchsergebnis bei einstündiger Digestion der Gemische von Cobragift, Meerschweinchenserum und zugesetztem Serum vor dem Blutzusatz wiedergibt.

Wie die Kolonne a zeigt, erfolgt auch hier die Hämolyse parallel den Cobragiftmengen; dabei ist in der gewählten Versuchsanordnung nur eine eben angedeutete antikomplementäre Funktion nachweisbar, da wegen der geringen Konzentration des Meerschweinchensersums eine Zerstörung nicht eintreten konnte. Dagegen zeigen die Kolonnen b, c und d eine derartige Verstärkung der antikomplementären Wirkung der größeren Cobragiftdosen bei Zusatz von Syphilitiker-, Normalmenschen- und Meerschweinchenserum, daß es hier zu einer völligen Aufhebung der Komplementfunktion gekommen ist. Dabei erscheint in den Kolonnen b und c das Resultat insofern noch besonders prägnant, als sich hier zu der hämolytischen Quote des Cobragiftes, die, wie die rechte Hälfte der Tabelle zeigt, nur bis $\frac{1}{16}$ 0,2 ccm Cobragift markant in Erscheinung tritt, noch die Wirkung der hämolytischen Normalambozeptoren des Menschensersums hinzuaddiert und bei den nicht mehr inaktivierend und nicht mehr hämolytisch wirkenden Cobragiftdosen noch zu kompletter Hämolyse geführt hat, wodurch die Zone der völligen Komplementinaktivierung durch Zusammenwirken des Cobragiftes mit dem zugesetzten Serum noch markanter sich hervorhebt.

In einem weiteren Versuch wurden die Gemische von Cobragift, Meerschweinchenserum und dem zugesetzten Serum nicht nur bei 37°, sondern auch bei 0° 1 Stunde vor dem Blutzusatz digeriert, da anzunehmen war, daß analog den Erfahrungen von Morgenroth und Kaya bei der einfachen Inaktivierung des Komplements durch Cobragift auch

die Verstärkung der Cobragiftwirkung durch Serumzusatz bei 0° ausbleiben würde. Daß dem tatsächlich so war, zeigt der nächste Versuch:

Versuch III.

Absteigende Mengen 1-proz. Cobragiftes werden

A. im Brutschrank bei 37°,

B. im Eistopf bei 0°

mit je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums unter Zusatz von

a) 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung,

b) 0,25 „ 10-fach verdünnten inaktiven Syphilitikerserums,

c) 0,25 „ 10 „ „ „ Normalmenschenserums,

d) 0,25 „ 10 „ „ „ Meerschweinchenserums

1 Stunde digeriert (Gesamtvolumen 0,7 ccm). Sodann erfolgt Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblut und 0,25 ccm Kochsalzlösung. Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° zeigt die Tabelle III.

Tabelle III.

Menge des 1-proz. Cobra- giftes ccm		A				B			
		Hämolyse von Hammelblut durch bei 37° digerierte Gemische von Cobragift und Meerschweinchen- serum unter Zusatz von				Hämolyse von Hammelblut durch bei 0° digerierte Gemische von Cobragift und Meerschweinchen- serum unter Zusatz von			
		a	b	c	d	a	b	c	d
		Koch- salz- lösung	Syphi- litiker- serum	Normal- mensch.- Serum	Meer- schw.- Serum	Koch- salz- lösung	Syphi- litiker- serum	Normal- mensch.- Serum	Meer- schw.- Serum
1/4	0,2	k	0	0	0	k	k	k	k
1/8	0,2	k	0	0	0	k	k	k	k
1/16	0,2	k	Spch	Spch	Spch	k	k	k	k
1/32	0,2	Spch	fk	w	Spch	Spch	k	k	Spch
1/64	0,2	0	k	k	0	0	k	k	0
1/128	0,2	0	k	k	0	0	k	k	0
1/256	0,2	0	k	k	0	0	k	k	0
0	0	0	k	k	0	0	k	k	0

Wie ein Vergleich der Kolumnen b, c und d in den beiden Hälften der Tabelle ergibt, ist die Inaktivierung des Komplements durch die kombinierte Wirkung von Cobragift und dem zugesetzten Syphilitiker-, Normalmenschens- und Meerschweinchenserum nur in den bei 37°, nicht aber in den bei 0° digerierten Gemischen eingetreten, wie es nach den Erfahrungen von Morgenroth und Kaya zu erwarten war.

Weitere Versuche bezweckten, festzustellen, ob bei der Verstärkung der Cobragiftinaktivierung des Komplements Unterschiede in der verstärkten Wirkung zwischen normalen und syphilitischen Sera nachweisbar waren. Es wurde dabei derart verfahren, daß absteigende Mengen der zu untersuchenden Sera mit $\frac{1}{5}$ 0,2 ccm 1-proz. Cobragiftlösung und $\frac{1}{10}$ 0,25 ccm Meerschweinchenserum eine Stunde digeriert wurden. Hierauf erfolgte der Zusatz der Hammelblutkörperchen. Als hämolytischer Ambozeptor diente in einem Teil der Versuche das Hämolysin des Cobragiftes, in einem anderen Teil erfolgte Zusatz von Immunambozeptor. Da sich verwertbare Differenzen in der Stärke der Inaktivierungsbegünstigung nicht ergaben, so möchte ich von einer Wiedergabe detaillierter Versuchsprotokolle absehen. Doch sei darauf hingewiesen, daß die Komplementinaktivierung bei Benutzung des im Cobragift enthaltenen Hämolysins wesentlich stärker war als bei Zusatz von hämolytischem Immunserum.

In weiteren Versuchen wurde die Eignung verschiedenartiger Sera, die Verstärkung der Cobragiftinaktivierung zu bewirken, untersucht. Dabei konnten aus äußeren Gründen außer Menschen- und Meerschweinchenserum vorläufig nur noch Hammel- und Rinderserum herangezogen werden.

Um einen Vergleich zwischen den verschiedenartigen Sera zu gewinnen, wurde zunächst die schon beim ersten Versuch (vgl. Tabelle I) benutzte Versuchsanordnung herangezogen und demgemäß folgendermaßen verfahren:

Versuch IV.

Absteigende Mengen von Meerschweinchenserum werden mit je 0,2 ccm 5-fach verdünnter 1-proz. Cobragiftlösung unter Zusatz von

- a) 0,25 ccm NaCl,
- b) 0,25 ccm 10-fach verdünnten inaktiven Menschenserums,
- c) 0,25 ccm 10-fach verdünnten inaktiven Hammelserums,
- d) 0,25 ccm 10-fach verdünnten inaktiven Rinderserums,
- e) 0,25 ccm 10-fach verdünnten inaktiven Meerschweinchenserums

1 Stunde bei 37° digeriert (Gesamtvolumen 0,7 ccm). Sodann erfolgt Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Kochsalzlösung.

f) In einer Kontrollreihe werden Meerschweinchenserum, Cobragift und Hammelblutkörperchen direkt gemischt.

Das Ergebnis nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank zeigt die Tabelle IV.

Tabelle IV.

Mengen des Meersch.- Serums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Gemische von Meer- schweinchenserum und Cobragift unter Zusatz von					
	a	b	c	d	e	f
	Kochsalz- lösung	Menschen- serum	Hammel- serum	Rinder- serum	Meersch.- Serum	Kon- trolle
0,15	Spch	0	0	w	0	k
0,1	Sp	0	0	w	0	k
0,05	k	Spch	0	w	Spch	k
0,03	k	Spch	0	st	Sp	k
0,02	fk	Spch	0	st	w	fk
0	0	0	0	0	0	0

Wie die Kolumne a zeigt, ist hier die Inaktivierung des Komplements unter der isolierten Einwirkung des Cobragiftes nur wieder bei den größten Meerschweinchenserumdosen eingetreten, während bei den geringeren Mengen der Komplementgehalt quantitativ erhalten ist, wie ein Vergleich mit der Kontrollreihe f zeigt. Dagegen ist in den Reihen b, c, d und e eine deutliche Verstärkung der Cobragiftwirkung eingetreten, die am stärksten ausgesprochen ist beim Hammelserum, etwas weniger stark beim Menschenserum und am schwächsten beim Meerschweinchen-, bzw. Rinderserum.

Noch demonstrativer ist der nächste Versuch, bei dem absteigende Mengen der verschiedenen Sera zur Verwendung kamen.

Versuch V.

Je 0,2 ccm 5-fach verdünnten 1-proz. Cobragiftes werden mit je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums unter Zusatz von absteigenden Mengen

- a) inaktiven Menschenserums,
- b) inaktiven Hammelserums,
- c) inaktiven Rinderserums,
- d) inaktiven Meerschweinchenserums

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert (Gesamtvolumen 0,7 ccm). Sodann erfolgt Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblut und 0,25 ccm Kochsalzlösung.

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion bei 37° zeigt die Tabelle V.

Tabelle V.

Mengen der zugesetzten Sera ccm	Hämolyse von Hammelblut durch digerierte Gemische von Cobragift und Meerschweinchenserum unter Zu- satz absteigender Mengen von			
	a	b	c	d
	Menschen- serum	Hammel- serum	Rinder- serum	Meersch.- Serum
0,025	Spch	0	Spch	w
0,015	Spch	0	Spch	m
0,01	Spch	0	Spch	m
0,005	Spch	0	w	fk
0,003	Spch	Spch	w	fk
0,002	st	Sp	w	fk
0	k	k	k	k

Der Versuch zeigt wieder die schon hinlänglich bekannte Tatsache, daß der Zusatz der verschiedenartigen Sera von erheblichem Einfluß auf die Cobragift-inaktivierung des Meerschweinchenserums war. Während die letzten Röhrchen jeder Reihe, die die Gemische von Meerschweinchenserum und Cobragift allein ohne andersartigen Serumzusatz enthalten, komplette Hämolyse aufweisen, ist durch den Zusatz der verschiedenartigen Sera die Hämolyse zum Teil in recht beträchtlicher Weise gehemmt, die Komplementfunktion also aufgehoben worden. Wie die Tabelle zeigt, haben z. B. von Menschen- bzw. Hammelserum 0,003 bzw. 0,002 ccm genügt, um zu fast völliger Aufhebung der Komplementwirkung zu führen, ohne daß bei dem Hammelserum die untere Grenze der Wirksamkeit erreicht worden war.

Gerade dieser letztere Versuch scheint uns als Ausgangspunkt für verschiedene theoretische Ueberlegungen von einem gewissen Interesse zu sein. Wir waren von der von Omorokow festgestellten Tatsache ausgegangen, daß die Cobragift-inaktivierung von der Konzentration des Meerschweinchenserums abhängt und daß es daher gelingen müßte, durch entsprechende Abänderung der Serumkonzentration durch Zusatz andersartigen Serums auch unter Versuchsbedingungen noch eine Inaktivierung des Komplements herbeizuführen, unter denen eine Inaktivierung ohne diesen Zusatz wegen unzureichender Konzentration des Meerschweinchenserums ausgeschlossen war.

Wie die Tabelle IV in der Kolumne a zeigt, tritt bei einer 5-fachen Verdünnung des Meerschweinchen-serums die Inaktivierung durch das Cobragift gerade noch ein, während sie bei einer stärkeren Verdünnung des Meerschweinchen-serums (10-fache bis 25-fache Verdünnung) völlig ausbleibt. Auffallenderweise führt aber, wie die Tabelle IV zeigt, bei einer Menge von 0,02 ccm Meerschweinchen-serum (= einer 25-fachen Serumverdünnung) schon ein Zusatz von 0,025 ccm Menschen- oder Hammelserum, durch den noch nicht einmal eine Konzentration gleich einer 10-fachen Serumverdünnung erreicht wird, zu völliger oder fast völliger Inaktivierung des Komplements.

Noch anders gestalten sich die Verhältnisse, wenn man der Ueberlegung die minimalsten, noch zu einer Inaktivierung des Komplements führenden, zugesetzten Serummengen zugrunde legt. Wie sich aus Tabelle V ergibt, genügt bei Benutzung von Menschen- bzw. Hammelserum noch ein Zusatz von 0,003 bzw. 0,002 ccm Serum, um zusammen mit dem Cobragift zu einer fast völligen Aufhebung der Komplementwirkung zu führen; ein Zusatz also, durch den die ursprüngliche 20-fache Verdünnung des Meerschweinchen-serums (0,025 ccm in 0,5 Volumen) nur auf eine Gesamtkonzentration gleich etwa einer 18-fachen bzw. $18\frac{1}{2}$ -fachen Serumverdünnung gebracht wird, einer Konzentration, die weit unter derjenigen zurückbleibt, die bei Verwendung von Meerschweinchen-serum allein zu einer völligen Komplementinaktivierung notwendig ist.

Der Gedanke jedoch, diese Befunde etwa in dem Sinne zu verwerten, als ob die Konzentrationsverhältnisse nun nicht mehr von dem maßgebenden Einfluß wären, den man ihnen nach den Untersuchungen von Omorokow zuschreiben mußte, erscheint nicht ohne weiteres angängig. An und für sich hätte dieser Gedanke zunächst wohl nahegelegen. Da aber die Bedeutung der Konzentrationsverhältnisse bislang

nur für die Inaktivierung des Meerschweinchenserums erwiesen, und da andererseits nicht anzunehmen ist, daß für die Inaktivierung der verschiedenen Sera die gleichen Konzentrationsverhältnisse gelten, wie sie durch die Untersuchungen von Omorokow für das Meerschweinchenserum festgestellt worden waren, so muß man auch mit weitgehenden Schlußfolgerungen, die sich aus den Konzentrationsverhältnissen ergeben, vorsichtig sein. Denn wenn die Inaktivierungsbegünstigung durch die verschiedenen Sera nicht nach den für das Meerschweinchenserum optimalen Konzentrationsverhältnissen, sondern nach den unbekannten der zugesetzten Sera sich richtet, so ist Schlußfolgerungen, die sich auf den für das Meerschweinchenserum gültigen Konzentrationsverhältnissen aufbauen, der Boden entzogen.

Wenn es auf Grund dieser Ueberlegungen auch am nahelegendsten war, die Beeinflussung der Komplementinaktivierung durch den Zusatz der verschiedenen Sera auf die Aenderung der Konzentrationsverhältnisse zurückzuführen, so erschien uns rein hypothetisch noch eine weitere Möglichkeit diskutabel zu sein. Man könnte nämlich auch daran denken, daß es sich bei der durch die Kombination von Cobragift, Meerschweinchenserum und zugesetztem Serum bedingten antikomplementären Wirkung nicht oder wenigstens nicht allein um die bekannte Cobragiftinaktivierung des Komplements, sondern um eine echte Komplementbindungsreaktion handeln würde. Man müßte dann im Cobragift das Vorhandensein komplementbindender Ambozeptoren supponieren, während als Antigene die zugesetzten Sera fungieren würden. Die entwickelte Annahme würde unseres Erachtens dem Verständnis insofern keine besonderen Schwierigkeiten bereiten, als ja das Cobragift auch eine Pluralität hämolytischer Ambozeptoren enthält, die bei Komplettierung durch Meerschweinchenserum die verschiedenartigsten Blutkörperchen zu lösen vermögen. Für das Vorliegen einer wirklichen Komplementbindung, die die von uns erhobenen Befunde relativ einfach erklären könnte, lassen sich noch verschiedene Argumente heranziehen. Einmal zeigen unsere Befunde, daß analog den Beobachtungen bei anderen

Komplementbindungsreaktionen noch relativ geringe Antigenmengen zur Bindung ausreichen, während man mit dem Ambozeptor (Cobragift) nicht so weit heruntergehen kann. Ferner besteht bei dem Cobragift, wie die Tabellen II und III zeigen, ein auffallender Parallelismus einerseits zwischen der durch das Zusammenwirken von Cobragift und Meerschweinchenserum bedingten hämolytischen Zone und andererseits der durch den Serumzusatz verursachten Komplementbindungszone. Auch diese Beobachtungen würden, wenn sich der erwähnte Parallelismus bei weiteren Untersuchungen bestätigte, mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf eine Ambozeptornatur oder wenigstens auf eine gewisse Gleichartigkeit der die Hämolysen bzw. die Komplementinaktivierung vermittelnden Cobragiftbestandteile schließen lassen. Endlich scheint uns noch bemerkenswert zu sein, daß die Komplementbindung bei Verwendung des im Cobragift enthaltenen Ambozeptors als Hämolysin wesentlich markanter zu gelingen scheint, als bei Verwendung von Immunambozeptoren, worin vielleicht ebenfalls eine Analogie zu Beobachtungen bei anderen Komplementbindungsreaktionen zu sehen ist, bei denen der Nachweis einer maximalen Bindung gleichfalls von der Art des hämolytischen Systems in gewissem Maße abhängig ist. Damit würde auch in Einklang stehen, daß Beobachtungen verschiedener Autoren (Browning und Mackie, Jonas) auf eine Differenz im Zusammenwirken des Meerschweinchensersums mit Cobragift einerseits, mit Immunambozeptoren andererseits schließen lassen.

Nimmt man eine durch Ambozeptoren vermittelte anti-komplementäre Funktion an, so würde sich eine gewisse Schwierigkeit allerdings insofern ergeben, als die im Cobragift vorhandenen Ambozeptoren nur bei 37°, nicht aber bei 0° ihre komplementbindende Funktion erfüllen könnten. Immerhin ließen sich hierfür manche Analoga, insbesondere aus dem Gebiet der hämolytischen Ambozeptoren, heranziehen, wobei wir uns jedoch des Hypothetischen des ganzen Erklärungsversuches völlig bewußt sind.

Sieht man aber von der entwickelten Annahme ab und hält auch die durch Zusammenwirken von Cobragift und Serumzusatz bedingte Inaktivierung des Komplements für

fermentativ bedingt, so könnte man, wenn man den auffallenden Konzentrationsverhältnissen Rechnung tragen wollte, annehmen, daß der Serumzusatz gewissermaßen katalytisch wirken, oder daß das Serum Substanzen enthalten könnte, die in irgendeiner Weise die fermentative Funktion des Cobragiftes verstärken könnten. Es sei in dieser Hinsicht auf die interessanten Beobachtungen von Falk, Jakoby und Umeda, Jakoby und Sugga, Neumann verwiesen, die eine Verstärkung der Urease-Wirkung durch Serumzusatz beobachten konnten und dafür im Serum vorhandene „Auxosubstanzen“ verantwortlich machen.

Faßt man so die Cobragiftwirkung im Sinne von Morgenroth und Kaya, Omorokow usw. für fermentativ bedingt auf, so ist, worauf schon Omorokow aufmerksam gemacht hat, die Abhängigkeit des Vorganges von der Konzentration des Meerschweinchenserums in seinem Wesen nicht ohne weiteres dem Verständnis zugänglich. Omorokow hat daher versucht, die Art des Milieus, die bei den höheren Konzentrationen des Meerschweinchenserums natürlich eine etwas andersartige ist, als bei den niederen Konzentrationen, zur Erklärung heranzuziehen. Doch ergaben Versuche, um die bei hinreichender Serumverdünnung ausbleibende Inaktivierung durch Cobragift durch Veränderung der Reaktion herbeizuführen, negative Resultate. Omorokow diskutiert daher die weitere Annahme, daß der antikomplementären Wirkung des Cobragiftes ein komplizierterer Mechanismus zugrunde liegen könne. Nach Omorokow könnte man annehmen, „daß der Vorgang in zwei Phasen verläuft, indem das Cobragift zunächst auf die Bestandteile des Serums eine derartige Wirkung ausübt, daß nunmehr eine autoantikomplementäre Wirkung resultiert, für welche man auch lipoidartige Spaltprodukte verantwortlich machen könnte. Man würde dann den Einfluß der Konzentration nicht unbedingt auf die eigentliche fermentative Wirkung beziehen müssen, sondern auch an die Interferenz in der zweiten Phase denken können.“ Ohne auf eine nähere Diskussion dieser Verhältnisse einzugehen, sei nur darauf hingewiesen, daß unsere Befunde die erwähnte Anschauung

von Omorokow in einem gewissen Grad stützen zu können geeignet scheinen.

Der Serumzusatz könnte, sei es durch die Aenderung der Konzentrationsverhältnisse, sei es durch im Serum enthaltene „Auxosubstanzen“, die fermentative Funktion des Cobragiftes verstärken oder Bestandteile des Meerschweinchenserums der fermentativen Wirkung des Cobragiftes zugänglicher machen. Man könnte jedoch auch annehmen, daß der Serumzusatz der fermentativen Wirkung des Cobragiftes einen doppelten Angriffspunkt in dem Meerschweinchenserum und dem zugesetzten Serum verschaffen und dadurch in dem Reaktionsgemisch zu einer wesentlich stärkeren Anhäufung lipoidartiger Spaltprodukte führen könnte, die ihrerseits für die stärkere antikomplementäre Wirkung verantwortlich zu machen wären¹⁾.

Bezieht man den Einfluß der Konzentration bei der antikomplementären Funktion des Cobragiftes nicht auf die eigentliche fermentative Wirkung, sondern auf die verschieden starke antikomplementäre Wirkung lipoidartiger Spaltprodukte bei verschiedenem Konzentrationszustand, so bestehen, worauf schon Omorokow aufmerksam gemacht hat, Analogien zu gleichsinnigen Beobachtungen von Satta und Donati sowie Marx bei der Wassermannschen Reaktion, denen zufolge die Wassermannsche Reaktion bei größerer Konzentration der gleichen Mengen reagierender Stoffe in verstärktem Maße eintritt.

Zusammenfassung.

1) In Bestätigung der Angaben von Omorokow ergab sich, daß die antikomplementäre Wirkung des Cobragiftes von der Konzentration des Meerschweinchenserums abhängig war. Dabei zeigte sich, daß bei einer 5-fachen Verdünnung des Meerschweinchenserums noch eine völlige oder fast völlige Inaktivierung des Komplements durch Cobragift gelang, während bei einer 10—25-fachen Verdünnung des Meer-

1) Vgl. bezüglich der Theorie der Cobragiftinaktivierung des Meerschweinchenserums auch Schmidt und Liebers (Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Ther., Bd. 22, 1914, p. 220) sowie Hirschfeld und Klinger (Biochem. Zeitschr., Bd. 70, 1915, p. 398).

schweinchenserums die Inaktivierung ausblieb, so daß bei diesen Konzentrationen der Komplementgehalt quantitativ erhalten war.

2) Wurden zu derartigen Verdünnungen des Meerschweinchenserums jedoch verschiedenartige Sera zugesetzt, so kam es zu einer so ausgeprägten Verstärkung der antikomplementären Wirkung des Cobragiftes, daß eine völlige oder fast völlige Aufhebung der Komplementfunktion resultierte.

3) Am stärksten wirksam erwies sich dabei der Zusatz von Hammelserum, danach folgte Menschen-, Meerschweinchen- und Rinderserum.

4) Bei Benutzung von Menschen- bzw. Hammelserum genügte noch ein Zusatz von 0,003 bzw. 0,002 ccm Serum zu einer 20-fachen Verdünnung des Meerschweinchenserums, um zu einer fast völligen Aufhebung der Komplementfunktion zu führen. Es war bei dieser Kombination also noch ein Serumzusatz wirksam, durch den die ursprüngliche 20-fache Verdünnung des Meerschweinchenserums nur auf eine Gesamtkonzentration (Meerschweinchenserum und zugesetztem Serum) gleich etwa einer 18-fachen bzw. $18\frac{1}{2}$ -fachen Serumverdünnung gebracht wurde, einer Serumkonzentration, die weit unter derjenigen zurückbleibt, die bei Verwendung von Meerschweinchenserum allein zu einer völligen Komplementinaktivierung notwendig ist.

5) Die Bedeutung dieser Befunde für die Theorie der antikomplementären Cobragiftwirkung wird besprochen.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium des beratenden Hygienikers der ... Armee.]

Untersuchungen über die Aetiologie, Immunität und spezifische Behandlung der Weilschen Krankheit (Icterus infectiosus).

Von

Oberstabsarzt Prof. Dr. **Uhlenhuth** und Stabsarzt Dr. **Fromme**,
Beratender Hygieniker, z. Zt. im Felde. Korpshygieniker, z. Zt. im Felde.

Mit 6 Tafeln und 14 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Juli 1916.)

Der infektiöse Ikterus, der im Jahre 1886 zuerst von Weil¹⁾ beschrieben wurde und nach ihm den Namen „Weilsche Krankheit“ führt, ist auch in Friedenszeiten, besonders in der Armee — wenn auch verhältnismäßig selten — beobachtet worden. Die in dem Sezessionskriege (1861 bis 1865) in großem Umfange beobachteten Erkrankungen an infektiösem Ikterus dürften wohl mit der Weilschen Krankheit identisch sein. Es erkrankten damals über 70 000 Mann, d. h. 2—2,5 Proz. der Truppenstärke. Die Mortalität betrug 0,4 Proz.²⁾ Man darf diese Krankheit daher wohl auch zu den Kriegsseuchen rechnen. Auch in dem jetzigen Kriege sind Erkrankungen an infektiösem Ikterus hier und da beobachtet worden.

Da das Krankheitsbild vielen Aerzten nicht bekannt sein dürfte, sei hier die präzise Beschreibung von Fiedler³⁾ wiedergegeben, die er im Jahre 1888 in einer grundlegenden Arbeit über die Weilsche Krankheit gemacht hat und die auch jetzt im großen und ganzen noch zutreffend ist.

„1. Die Weilsche Krankheit ist eine akute Infektions- und Intoxikationskrankheit.

1) Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 39, 1886.

2) Siehe Moritz, Epidemische Gelbsucht im Kriege. Referat Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 48. (Originalarbeit war uns nicht zugänglich.)

3) Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 42, 1888.

2. Sie ist wahrscheinlich (ätiologisch, symptomatologisch, anatomisch) identisch mit dem zuerst von Griesinger 1852 in Kairo beobachteten und noch jetzt in Alexandrien, Smyrna usw. vorkommenden und neuerdings von Kartulis und Diamantopulos beschriebenen biliösen Typhoid (Typhus biliosus), einer Krankheit, die mit der Febris recurrens nichts gemein hat.

3. Es handelt sich bei der Weilschen Krankheit nicht um einen Kollektivbegriff, sondern um eine wohlcharakterisierte, spezifische Krankheit. Dieselbe ist streng unterschieden von Typhus abdominalis, von der Septikämie, dem Icterus catarrhalis usw. Sie ist morbus sui generis.

4. Die Krankheit befällt hauptsächlich das männliche Geschlecht in den Blütejahren, sehr selten Frauen und Kinder; sie kommt vorzugsweise in der heißen Jahreszeit vor.

5. Die Weilsche Krankheit beginnt ganz plötzlich, ohne Prodromalerscheinungen, meist von Schüttelfrost eingeleitet, mit heftigem Fieber, Kopfschmerz, Gehirnkongestionen, schweren Allgemein- und gastrischen Symptomen, vermehrtem Durstgefühl. Sehr bald, in der Regel schon am 2. Tage, treten heftige Muskelschmerzen, besonders in der Muskulatur der Waden ein, welche längere Zeit, oft wochenlang, anhalten.

6. Am 3. bis 7. Tage tritt Ikterus infolge von Gallenstauung auf, häufig, und meist entsprechend der Intensität des Ikterus, mit Schwellung und Schmerzgefühl der Leber.

7. Das Fieber hat einen typischen Verlauf, hält gewöhnlich 8 bis 12 Tage an, der Abfall erfolgt staffelförmig. In etwa $\frac{1}{5}$ der Fälle tritt, 5 bis 8 Tage, nachdem die normale Temperatur erreicht ist, eine zweite Temperatursteigerung ein, meist von geringerer Dauer und Intensität.

8. Der Puls ist anfangs frequent, auf der Höhe des Ikterus subnormal, selten aussetzend, häufig dikrot.

9. Nephritis (Albuminurie) wird bei der Weilschen Krankheit fast regelmäßig beobachtet (zuweilen Nephritis haemorrhagica). Die Urinmenge ist anfangs vermindert, der Urin eine Zeitlang gallenfarbstoffhaltig.

10. Schwellung der Milz läßt sich in der größten Mehrzahl der Fälle, besonders in der ersten Zeit der Erkrankung, nachweisen; häufig erreicht der Milztumor eine beträchtliche Größe.

11. Herpes und Erytheme gehören zu den gewöhnlichen Vorkommnissen bei der Krankheit.

12. Epistaxis wurde sehr häufig beobachtet, sehr oft auch andere Schleimhautblutungen und in den schweren Fällen subkutane und submuköse Ekechymosen.

13. Katarrhe der Luftwege kommen bei der Weilschen Krankheit nur äußerst selten vor, Pneumonie und Pleuritis wurden nur einige Male beobachtet.

14. Die Krankheit gibt in unseren Klimaten eine verhältnismäßig günstige Prognose. — Die Rekonvaleszenz ist eine protrahierte.“

Weitere klinische und epidemiologische Beobachtungen finden sich namentlich in der ausgezeichneten Arbeit von Hecker

und Otto¹⁾, wo auch die bis dahin erschienenen Arbeiten ausführlich erwähnt und zum Teil kritisch besprochen sind.

Die von uns beobachteten Fälle von Weilscher Krankheit stimmten mit dem beschriebenen Symptomenkomplex im allgemeinen überein. Als außerordentlich charakteristisch möchten auch wir die im ersten fieberhaften Beginn auftretenden Wadenschmerzen, die besonders bei Druck in die Erscheinung treten, hervorheben. Sie sichern geradezu die Diagnose²⁾. Wir verweisen im übrigen auf die Arbeit von Trembur und Schallert (Med. Klinik, 1916, No. 16), die nähere Angaben über das von uns beobachtete, unseren Untersuchungen zugrunde liegende Krankenmaterial enthält. Ueber die pathologische Anatomie orientiert die sorgfältige Arbeit von Beitzke³⁾. Wir bringen aus dieser Arbeit einen Sektionsbefund über einen Fall Weilscher Krankheit.

Allgemeine Gelbsucht. Massenhafte punktförmige Blutungen in Haut, Kehlkopf-, Magen-, Darm- und Nierenbeckenschleimhaut, unter der Herzinnenhaut, unter Herz-, Lungen- und Rippenfell, ins Lungengewebe, in die weiche Hirnhaut sowie in die Wadenmuskulatur. Blutung in die Darmlichtung. Blutige Entzündung der harten Hirnhaut (Pachymeningitis haemorrhagica interna). Schwere trübe Schwellung der Nieren mit oberflächlichen Rissen und Blutungen. Schwellung der oberen Halslymphdrüsen. Lungenödem. Geringe Schwellung von Milz und Leber. (Beitzke.)

Ueber die histologischen Veränderungen muß im Original nachgelesen werden.

Auftreten und Verlauf der Krankheit machten es sehr wahrscheinlich, daß ein lebendes Virus als Ursache der Erkrankung in Betracht käme. In der Literatur ist denn auch eine große Anzahl von Bakterien beschrieben worden, die als Erreger der Krankheit angesehen wurden (s. Hecker und Otto). Unter den zahlreichen Mikroorganismen findet man in mehreren Lehrbüchern heute noch in erster Linie den *Bacillus proteus fluorescens*, der von Jäger aufgefunden wurde, als Erreger angegeben. Aber auch dieser kommt, wie wir sehen werden, als Ursache der Krankheit nicht in Betracht.

1) Veröffentl. aus dem Gebiete des Militärsanitätswesens, 1911, Heft 46.

2) S. auch im Anhang die Beschreibung der klinischen Befunde und die Temperaturkurven.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 8.

Unsere Untersuchungen ¹⁾ über das Wesen der Weilschen Krankheit, die in unserem Feldlaboratorium von Ende August bis Ende Dezember 1915 vorgenommen wurden ²⁾, waren zunächst darauf gerichtet, in den Entleerungen und im Blute der erkrankten Menschen die fraglichen Erreger nachzuweisen. Die gebräuchlichen, von uns angewandten mikroskopischen und kulturellen Untersuchungsmethoden führten jedoch nicht zum Ziele.

Will man in der Erforschung der Ursache und des Wesens einer Infektionskrankheit vorwärtskommen, so muß man immer wieder versuchen, die Krankheit auf Tiere zu übertragen. Die in dieser Richtung von uns angestellten Versuche waren erfolgreich.

Von einem Fall von Gelbsucht mit hohem Fieber wurde am 8. Krankheitstage defibriniertes Blut auf Affen, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse verimpft, wie es bereits von Fiedler, Schittenhelm sowie von Hecker und Otto mit negativem Ergebnis ausgeführt war.

Wir bringen im folgenden die Protokolle:

Fall Sch.

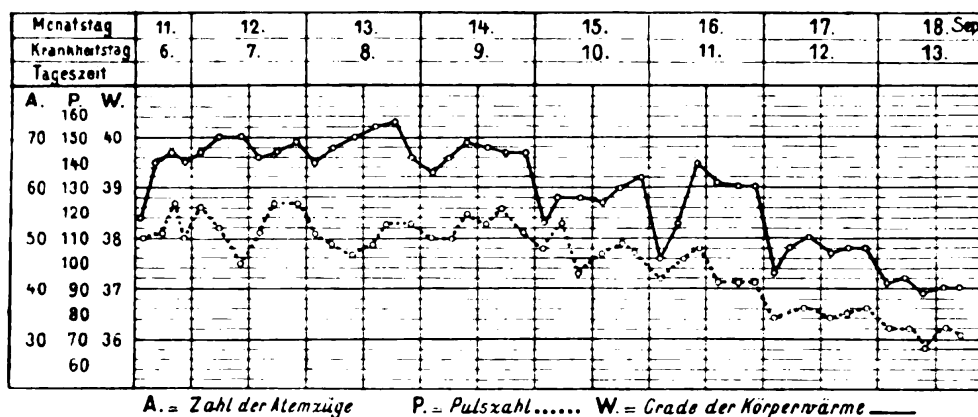
Beginn am 7. IX. 1915 mit Schüttelfrost, starken Kopfschmerzen, Erbrechen, starkem Krankheitsgefühl, nachdem seit dem 4. IX. Kopfschmerzen bestanden hatten. Bei Aufnahme ins Lazarett am 11. IX. wurde festgestellt: Benommenheit, Schwerbesinnlichkeit, häufiges Erbrechen, starke Schmerzen beim Betasten der Ober- und Unterschenkelmuskulatur, Eiweiß im Urin, hohes Fieber mit entsprechender Pulszahl. Verlauf: 14. IX. heftige Hustenausfälle; im Auswurf hellrotes schaumiges Blut. Conjunctivitis; beginnender Ikterus der Haut. Wadenmuskulatur sehr schmerzhaft. Leber druckempfindlich.

16. IX. Ikterus nimmt zu. An der Streckseite der Oberschenkel rote Hautflecken. An den Lippen hämorrhagischer Herpes. Zunge schmutzig belegt. Nasenbluten. Pneumonische Herde rechts unten. 18. IX. Körperhaut zitronengelb. Im Auswurf reichlich geronnenes Blut. Allgemeinbefinden besser. Benommenheit hat nachgelassen.

1) S. unsere Mitteilungen Med. Klinik, 1915, No. 44, 46, 47, 50, und Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 11.

2) Einige ergänzende Untersuchungen sind auch noch später ausgeführt worden.

Die Krankheit ging allmählich in Genesung über. Aus beifolgender Kurve ist das Verhalten von Temperatur und



Kurve 1.

Pulszahl zu ersehen. Das am 14. IX. entnommene Blut wurde in folgender Weise auf Tiere verimpft:

14. IX. 1915. 1) Affe I (Rhesus): 2,0 ccm frisches Blut aus der Armvene entnommen, direkt verimpft (nicht defibriniert) i.m. und 1,0 ccm s.k. Temperaturmessungen ergaben:

vor der Impfung	39,2	18. IX.	37,7—36,6
15. IX.	38,2—38,0	19. IX.	37,8—38,1
16. IX.	38,3—37,9	20. IX.	37,9—37,1
17. IX.	38,5—38,2	21. IX.	37,9—37,1

Dauernd gesund geblieben, zeigte nicht die geringsten Krankheitserscheinungen.

14. IX. 1915. Affe II: 2,0 ccm defibriniertes Blut i.m. Die Körpertemperatur verhielt sich folgendermaßen:

vor der Impfung	39,4	18. IX.	38,4—38,3
15. IX.	38,5—38,4	19. IX.	38,2—37,9
(leichter Durchfall)		20. IX.	38,3—37,8
16. IX.	39,0—39,1	21. IX.	38,1—37,7
17. IX.	38,7—39,1		

Außer dem bald vorübergehenden Durchfall dauernd gesund; zeigt nicht die geringsten Krankheitserscheinungen.

2) Maus, Kopf blau: 0,5 ccm defibriniertes Blut subkutan, gesund geblieben.

3) Kaninchen, gelb: 1,0 ccm defibriniertes Blut i.v., gesund geblieben.

Kaninchen, grau: 2,0 ccm defibriniertes Blut i.p., gesund geblieben.

4) Meerschweinchen (400 g), hinten blau: 2,0 ccm defibriniertes Blut i.p., gesund geblieben.

10. X. nachgeimpft mit 2,0 ccm Virusblut (vom Meerschweinchen) i.p.

15. X. gelb. † Befund typisch.

Schutzkörper, die auf das Ueberstehen einer leichten Infektion hindeuten würden, konnten somit nicht nachgewiesen werden.

14. IX. Meerschweinchen (300 g), vorn blau: 2,0 ccm defibriertes Blut i.p.

26. IX. gelbe Skleren und Exitus. † Befund typisch¹⁾.

Von diesen im Protokoll erwähnten Tieren erkrankte das eine mit 2,0 ccm defibrinierten Blutes intraperitoneal geimpfte Meerschweinchen (vorn blau) 12 Tage nach der Verimpfung an typischem Ikterus und starb. Das Tier zeigte folgenden Befund:

Gelbfärbung der Skleren und sichtbaren Schleimhäute, gelbe Verfärbung der Unterhaut und der Knorpel; ausgedehnte Hämorrhagien in der Unterhaut, besonders der Drüsengegenden (Leistenbeuge), ferner Blutungen im Bindegewebe, Peritoneum und in der Muskulatur, in den Bauchorganen, besonders den Nieren und Nebennieren. Die Leber war von zahlreichen gelben bis hirsekorngroßen, unregelmäßig begrenzten Herden durchsetzt. Lebergewebe brüchig. Darm, besonders Dickdarm, hyperämisch, zum Teil hämorrhagisch. Milz ohne Besonderheit. Lungenoberfläche zeigte zahlreiche, bis überstecknadelkopfgroße Blutungen. Kulturen, auf den gebräuchlichen Nährböden angelegt, auch Verimpfungen von Organen blieben steril.

Prof. Chiari hatte die Güte, die histologische Untersuchung vorzunehmen, und konnte folgenden mikroskopischen Befund feststellen:

„1. Lungen: Herde von Blutaustritten in das Zwischengewebe und die Alveolarräume.

2. Leber: Starke Füllung der Blutgefäße mit Blut, stellenweise geringe Extravasationen von Blut, kleinzellige Infiltrationen der Interlobularräume; zerstreute Herde von galliger Infiltration und Nekrose der Leberzellen. Diese Herde sind bis ein Drittel eines Läppchens groß. — Solche Herde sehen wir beim Menschen bei schwerem Stauungsikterus, z. B. Carcinom des Ductus choledochus. — In den Leberzellen oft einzelne große und viele kleinere Fetttropfen. In den Leberzellen hier und da Mitosen.

1) Passagen s. Stammbaum (Anhang p. 480).

3. Nieren: Starke Hyperämie, Blutung in die Bowman'schen Kapseln, sehr spärliche hyaline Zylinder, kleinste Fetttröpfchen in den Epithelien einzelner Harnkanälchen.

4. Milz: Keine Veränderungen.

5. Nebennieren: Hyperämie und stellenweise geringe Blutung. Bei Sudanfärbung reichliches Lipoid in der Corticalis.

6. Darm: Hyperämie und reichliches lymphatisches Gewebe in der Submucosa.

Bakterien konnten in den Schnitten nicht gefunden werden.“

Alle übrigen mit dem gleichen Material geimpften Tiere blieben gesund.

Von einem 2. Krankheitsfall konnten Blutproben 2 Tage, bevor der Ikterus auftrat, auf Meerschweinchen, einen Affen und eine Maus verimpft werden.

Fall See.

Beginn am 24. IX. 1915 nachts mit starkem Krankheitsgefühl, Frösteln, Kopfschmerzen, Schwindel. Bei der Lazarettaufnahme am 26. IX. die gleichen Beschwerden, ferner starke Druckempfindlichkeit der Waden- und Oberschenkelmuskulatur. Schluckbeschwerden. Der Verlauf war ein ziemlich schwerer. Am 30. IX. trat Ikterus auf. Nach einem Rezidiv in den ersten Tagen des Oktober ging die Krankheit allmählich in Genesung über.

Die Impfung der Tiere fand am Krankenbette statt.

Blut.

27. IX. 1) Meerschweinchen, rechts hinten Strich: 1,5 ccm frisches Blut, mit der Spritze entnommen, i.p.

3. X. leichter Ikterus der Skleren.

4. X. † Befund typisch, stark gelb.

Meerschweinchen, rechts vorn Strich: 2,0 ccm i.p.

3. X. beginnender Ikterus, gelb, †. 4. X. entblutet, Befund typisch.

Meerschweinchen, hinten links Strich¹⁾: 1,0 ccm i.c. 2. X. Skleren gelb. † Befund typisch.

Meerschweinchen, vorn links Strich: 0,5 ccm i.c. 3. X. leicht gelb. 4. X. gelb, entblutet. † Befund typisch.

Urin.

Meerschweinchen, vorn rot: 0,5 ccm i.p. 5. X. gelb. 6. X. † Befund typisch.

1) Passagen s. Stammbaum (Anhang p. 480).

- 2) Maus: 0,5 ccm i.p. 5. X. † o. B.
 3) Affe: 4,0 ccm i.m., gesund.
 16. X. 5,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Von Fall See. wird weiterhin Blut im fieberfreien Stadium verimpft, um zu sehen, ob das Blut noch infektiös ist.

Am 7. X. Meerschweinchen 1,5 ccm defibriniertes Blut i.p.
 10. X. † o. B.

Zur Feststellung, ob in den Organen dieses 3 Tage nach der Impfung gestorbenen Tieres Virus vorhanden, werden Organe (Lunge, Leber, Milz) verrieben, aufgeschwemmt und verimpft:

Meerschweinchen: 2,25 ccm i.p., bleibt gesund.

30. X. nachgeimpft mit Leberaufschwemmung. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Meerschweinchen: 1,0 ccm i.p., bleibt gesund.

30. X. nachgeimpft mit Leberaufschwemmung. 4. XI. gelb. † Befund typisch.

Meerschweinchen: 1,0 ccm i.c., bleibt gesund.

1. XI. nachgeimpft mit Leberemulsion. 8. XI. gelb. † Befund typisch.

In den Organen des ohne besonderen Befund gestorbenen Meerschweinchens war also Virus nicht nachzuweisen.

Von den 4 zum Teil intraperitoneal, zum Teil intracardial mit frischem Venenblut geimpften Meerschweinchen zeigten also ein Tier am 5., 3 Tiere am 6. Tage nach der Impfung gelb verfärbte Skleren. Das erste Tier starb am 6. Tage, die anderen wurden am 6. Tage entblutet. Das mit Urin intraperitoneal gespritzte Tier war am 8. Tage nach der Impfung gelb, es wurde am 9. Tage entblutet. Der Sektionsbefund deckt sich mit dem vorher beschriebenen. Affe und Maus zeigten keine Krankheitserscheinungen. Also auch dieser Befund sprach für eine gelungene Uebertragung des Krankheitsstoffes auf Meerschweinchen, zumal auch der Sektionsbefund und das Ergebnis der histologischen Untersuchung mit dem Befund beim Menschen (siehe Beitzke) eine große Ähnlichkeit zeigte.

Zu den gleichen Ergebnissen waren kurz vor uns und unabhängig von uns Hübener und Reiter gekommen.

Im weiteren Verlaufe unserer Untersuchungen ist es uns dann in zahlreichen (21) Fällen gelungen, das Virus von ikteruskranken Menschen auf Meerschweinchen zu übertragen. Die Uebertragung gelang am besten, wenn das Blut aus den ersten Tagen der Erkrankung stammte. In späteren Stadien der Krankheit, auch im Rezidiv (s. p. 465) und mit Leichenmaterial versagte die Ueberimpfung (s. p. 455 und 461).

Aber auch bei typischen Weilschen Erkrankungen gelingt die Uebertragung der Krankheit auf Meerschweinchen längst nicht regelmäßig, auch wenn das Blut aus den ersten Tagen der Erkrankung stammt (siehe Anhang, negative Fälle).

Auch die Verimpfung von Urin kranker Menschen führte zu positivem Ergebnis (s. p. 323). In einigen Fällen ist Blut und Urin positiv; in anderen Fällen ist das Blut oder der Urin allein infektiös. Die Protokolle s. im Anhang.

Ueber die **Empfänglichkeit verschiedener anderer Tiere** seien unsere ad hoc angestellten Versuche im folgenden noch einmal im Zusammenhang aufgeführt.

Unter den übrigen zur Untersuchung herangezogenen Tieren gelang es nur bei Kaninchen, erkennbare Krankheitssymptome hervorzurufen. Zwei junge Kaninchen, mit Virusblut von Meerschweinchen geimpft, ließen 4 Tage nach der Impfung entzündete Augenbindehäute, 2 Tage später deutlich gelbe Skleren erkennen. Die ikterische Verfärbung wurde bei beiden Tieren in den nächsten Tagen intensiver. Das eine Tier starb 7 Tage nach der Impfung ohne besonderen Sektionsbefund. Die Subcutis war blaßgelb. Spirochäten wurden in den Organen nicht gefunden. Todesursache ist möglicherweise die 2 Tage vorher einverleibte Atoxylgabe. Die Gelbfärbung der Skleren des anderen Tieres blaßte allmählich ab; weitere Krankheitszeichen traten nicht auf. Am 16. X. wurden diesem Tiere 10,0 ccm Blut entnommen und auf neue Tiere weiterverimpft, und zwar auf 4 Kaninchen, ein Meerschweinchen, eine Maus. Von diesen starb ein Kaninchen 6 Tage nach der Impfung ohne charakteristischen Befund. Die übrigen Tiere blieben gesund. Einzelheiten ergeben folgende Protokolle:

Versuch I. 10. X. 1915. Junges Kaninchen a erhält 2,0 ccm. Meerschweinchenvirusblut i.v.

14. X. Injektion der Skleralgefäße. 16. X. gelbe Skleren. 17. X. stark gelbe Skleren.

19. X. Ikterus geht zurück. 22. X. Ikterus nahezu verschwunden.

1. XI. 1,0 ccm Virusblut i.p.

In der Annahme, daß auf der Höhe des Ikterus die Uebertragung des Virus besonders aussichtsreich sei, wurden dem Kaninchen a am 16. X. 10 ccm Herzblut entnommen, das, defibriert, folgenden Tieren eingespritzt wurde:

jungem Kaninchen	27
" "	28
" "	29
" "	30
Meerschweinchen	31

Kaninchen 30 starb am 22. X. Die Organe zeigten keine krankhaften Veränderungen. Alle übrigen Tiere, besonders auch das Meerschweinchen, blieben gesund. Da das Meerschweinchen gesund blieb, ist anzunehmen, daß das dem Kaninchen a entnommene Blut frei von Virus war.

Versuch II. 10. X. 1915. Junges Kaninchen b erhält 2,0 ccm Virusblut vom Meerschweinchen i.v.

14. X. Injektion der Skleralgefäße.

16. X. Skleren gelb; erhält 0,1 Atoxyl i.p.

17. X. Ikterus der Skleren unverändert.

18. X. tot. Befund ohne Besonderheiten. Keine Spirochäten in der Leber.

Versuche, Kaninchen mit virushaltigem Menschenblut zu infizieren, sind fehlgeschlagen:

Versuch III. 14. IX. 2 Kaninchen wurden mit defibriertem Menschenblut i.v. (1 ccm) bzw. i.p. (2 ccm) injiziert. Die Tiere blieben gesund; Kontrollmeerschweinchen erkrankte (s. auch oben p. 321).

Es wurden dann ferner eine Reihe von großen und kleinen Kaninchen zwecks Serumgewinnung (s. unten) wiederholt mit großen Dosen von Virusblut und Leberaufschwemmung von Meerschweinchen behandelt, ohne daß späterhin Krankheitserscheinungen, wie ikterische Skleren etc., beobachtet wurden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Kaninchen gelegentlich für die Krankheit empfänglich sind. Der Krankheitsverlauf ist jedoch nach unseren bisherigen Beobachtungen ein leichter. Organveränderungen und Spirochäten konnten bei einem interkurrent gestorbenen Tier nicht nachgewiesen werden.

Affen haben sich in unseren Versuchen als nicht empfänglich für das Virus der Weilschen Krankheit erwiesen. Weder gelang es durch Verimpfung von Menschenblut noch von virushaltigem Meerschweinchenblut, Krankheitserscheinungen auszulösen.

Die Protokolle über unsere Affenimpfungen ergeben folgendes:

1) Affe I (Rhesus) (s. oben unter Fall Sch., p. 321) erhielt von Fall Sch. 2 ccm frisches, nicht defibriertes Venenblut i.m. und 1 ccm s.k. Der Affe blieb dauernd gesund, zeigte nicht die geringsten Krankheitserscheinungen.

2) Affe II (s. oben unter Fall Sch., p. 321) bekam 2 ccm defibriertes Blut i.m. Außer dem bald vorübergehenden Durchfall und einer leichten Temperaturerhöhung hat das Tier keine Krankheitszeichen erkennen lassen.

3) Affe (s. oben unter Fall See., p. 324) erhält 4 ccm defibriertes Blut vom Fall See. am 27. IX. i.m. Tier bleibt gesund.

Wird am 16. X. mit 5,0 ccm Virusblut vom Meerschweinchen nachgeimpft. Keinerlei Krankheitserscheinungen. Die gleichzeitig mit Menschenblut geimpften Meerschweinchen starben an Ikterus mit typischem Befund.

Auch 2 weitere mit Meerschweinchenvirus geimpfte Affen blieben gesund.

Wir haben sodann Versuche mit folgenden Tieren angestellt.

Ratten:

1. Versuch: 23. X. 1915. 1 wilde Ratte (Wanderratte): 2 ccm Virusblut vom Meerschweinchen i.p.

1 wilde Ratte (Wanderratte): 2 ccm Meerschweinchenvirusblut subkutan in die Schwanzwurzelgegend.

24. X. beide tot. Befund 0. Keine Spirochäten.

2. Versuch: 9. XI. 6 weiße Ratten erhalten je 2 ccm spirochätenhaltiger Leberaufschwemmung i.p. Die Ratten haben keinerlei Krankheitserscheinungen gezeigt.

17. XI. Ratten getötet. Organe normal. In der Leber keine Spirochäten.

Leberaufschwemmung wird weiterverimpft auf 2 Meerschweinchen. Diese Tiere bleiben gesund.

3. Versuch: 9. XI. 1 wilde Ratte (junges Tier) erhält 2 ccm virulenter Leberaufschwemmung i.p.

12. XI. tot. Sektionsbefund 0. Keine Spirochäten.

1 wilde Ratte (junges Tier) erhält 3 ccm Leberaufschwemmung.

17. XI. Tier ist munter und bleibt dauernd gesund.

Mäuse:

1. Versuch: 14. IX. 1915. 1 weiße Maus erhält 0,5 ccm Blut vom Fall Sch. s.k.; blieb gesund.

2. Versuch: 10. X. 3 weiße Mäuse erhalten je 1 ccm Virusblut vom Meerschweinchen i.p.; sind dauernd gesund.

3. Versuch: 21. X. 2 weißen Mäusen werden je 1 ccm, einer 3. Maus 3 ccm virulenter Leberaufschwemmung i.p. eingespritzt. Die Tiere sind dauernd gesund geblieben.

4. Versuch: 9. XI. 1 Hausmaus erhält 2 ccm virulenter Leberaufschwemmung. Tot am 12. XI. Befund negativ.

Hunde:

1. Versuch: 15. X. 1915. 1 Jagdhund erhält 2 ccm Virusblut i.v. und 10 ccm virulenter Leberaufschwemmung i.p.

18. X. Keratitis und Conjunctivitis. Sonst keine Erscheinungen von Ikterus.

2. Versuch: 1. XI. Einem langhaarigen mittelgroßen Hunde werden 30 ccm Blut- und Leberaufschwemmung i.p. einverleibt. Krankheitszeichen werden nicht beobachtet.

Katzen:

1. Versuch: 8. X. 1915. 1 Katze erhält 2 ccm defibriertes Virusblut i.c.

2. Versuch: 8. X. 1 Katze erhält 10 ccm Blut und Organaufschwemmung i.p.

Beide Katzen sind gesund geblieben.

3. Versuch: 10. X. Einer Katze werden täglich Meerschweinchenorgane gestorbener Tiere zum Fressen vorgeworfen. Vorübergehend krank. Verabreichung von Milch stellte die alte Freßlust wieder her. Das Tier hat etwa 12 Meerschweinchen verzehrt. Für Ikterus sprechende Krankheitserscheinungen nicht beobachtet.

Ferkel:

1. Versuch: 20. X. 1915. 1 Ferkel erhält 5 ccm Meerschweinchenvirusblut i.v.

2. Versuch: 20. X. 1 Ferkel desgleichen.

Bei beiden keine Krankheitszeichen.

Hammel:

1 Hammel erhält am 20. X. 1915 10 ccm virulentes Meerschweinchenblut i.v.

28. X. 20 ccm virulentes Mischblut i.v. Außer einer deutlichen Abmagerung haben sich Krankheitserscheinungen nicht eingestellt.

Ein weiterer Hammel, der mehrfach mit großen Dosen Virusblut zwecks Immunisierung vorbehandelt wurde, zeigte ebenfalls keine Krankheitserscheinungen (s. unten).

Esel:

Ein mittelgroßer Esel erhält am 6. XI. 1915 60 ccm Meerschweinchenmischblut i.v. Keine Krankheitserscheinungen.

Ein zweiter Esel zeigte nach Einspritzung größerer Mengen Virusblut ebenfalls keine Erscheinungen des Ikterus (s. unten).

Hühner:

1. Versuch: 10. X. 1915. 1 Huhn erhält 1,8 ccm Meerschweinchenvirusblut i.v.

2. Versuch: 10. X. 1 Huhn erhält 2,0 ccm Virusblut i.v.

Die Tiere sind dauernd gesund geblieben.

Affen, Ratten, Mäuse, Hunde, Katzen, Ferkel, Hammel, Esel und Hühner haben sich also als unempfindlich gegenüber der künstlichen Impfung mit dem Virus der Weilschen Krankheit erwiesen.

In gewissem Grade empfänglich sind die Kaninchen, hochempfänglich die Meerschweinchen.

Nach der Impfung mit Meerschweinchenvirus beobachtet man, um es noch einmal zusammenzufassen, regelmäßig folgende Erscheinungen:

Zunächst machen die Tiere einen ganz gesunden Eindruck. Etwa am 4. oder 5. Tage zeigt sich als erstes Zeichen der Erkrankung eine starke Injektion der Scleragefäße, bisweilen verbunden mit Conjunctivitis und Keratitis. Gleichzeitig lassen die Tiere im Fressen nach und sehen krank aus. Sodann färbt sich innerhalb von weiteren 24 Stunden die Sclera gelb. Auch die Haut — besonders an den Ohren — und sichtbaren Schleimhäute zeigen einen gelben Farbenton. Fast ausnahmslos gehen die Tiere dann nach kurzer Zeit meist ganz plötzlich, häufig unter Krämpfen und bisweilen unter Erscheinungen von Lungenödem zugrunde. •

Der Krankheitsverlauf und der Sektionsbefund sind so typisch und charakteristisch, der Beginn der Erkrankung durch die gelbe Verfärbung der Skleren so auffallend, daß man sich für experimentelle Untersuchungen kaum ein besseres Objekt denken kann. Nur in ganz seltenen Fällen zeigten die Meerschweinchen beim Tode keinen Ikterus. Der Sektionsbefund (besonders die Lungenveränderungen) war aber trotzdem typisch (s. unten „Stammbäume“).

Der Meerschweinchenversuch kann direkt zur Sicherung der Diagnose herangezogen werden. In einigen Fällen von Weilscher Krankheit, die ohne Ikterus verliefen, war uns der Tierversuch von ausschlaggebender diagnostischer Bedeutung, indem die geimpften Meerschweinchen an typischem Ikterus erkrankten und starben. Ohne den Tierversuch hätten die Fälle sicher nicht als Weilsche Krankheit diagnostiziert werden können. Das Nähere über diese Fälle sei kurz mitgeteilt ¹⁾:

Br., ein altgeschulter, zuverlässiger und gewissenhafter Laboratoriumsdiener, war bei den umfangreichen Tierversuchen in unserem Laboratorium angestrengt tätig. Er erkrankte am 9. XI. 1915 plötzlich mit Schüttelfrost, Kopfschmerz und Schluckbeschwerden. Allgemeine Müdigkeit, starke Muskelschmerzen, besonders in den Beinen, und hohes Fieber waren zunächst die hervorstechendsten Symptome. Vom 4. Krankheitstage an stellten sich bis zu 2 Stunden anhaltende heftige Wadenschmerzen ein, ferner wurden Nasenbluten und nächtlicher Schweißausbruch beobachtet. Kein Ikterus!

Die Organe der Bauchhöhle, Milz, Leber, Nieren ließen keine nachweisbaren Veränderungen erkennen, der Urin enthielt geringe Mengen von Eiweiß. Die Untersuchungen des Blutes usw. auf Typhus fielen negativ aus.

Ein trockener Husten ohne Auswurf und über beide Lungen in wechselnder Stärke verstreute Geräusche ließen den behandelnden Arzt zunächst an eine Broncho- bzw. Influenza-Pneumonie denken. Der Kranke wurde unter dieser Diagnose zunächst geführt.

Der Verdacht einer Infektion mit Weilscher Krankheit wurde sofort rege, da besonders die ausgesprochenen Muskelschmerzen darauf hindeuteten.

Es wurde deshalb am 11. XI. ein Meerschweinchen intraperitoneal mit defibriertem Blute des Patienten gespritzt. Am 18. XI. war das Tier gelb, es zeigte den typischen Sektionsbefund. In dem Leberpräparat des Tieres fanden sich massenhaft Spirochäten.

Die Krankheit verlief gutartig; der Urin enthielt ständig geringe Mengen von Eiweiß. In der 3. Woche setzte das erwartete Rezidiv ein, welches dieselben Erscheinungen darbot, wie die primäre Erkrankung, jedoch nur in sehr viel geringerem Grade. Der Patient erholte sich langsam; auffällig lange blieben noch Schmerzen in den Waden, in den Knie- und Fußgelenken bestehen.

Zu keiner Zeit wurde während des Verlaufes der Erkrankung auch nur eine Spur von Gelbfärbung bei dem Erkrankten beobachtet.

1) S. auch die Arbeit von Goebel: Beitrag zur Frage der sogenannten Weilschen Krankheit. Med. Klinik, 1916, No. 15.

Der andere Fall betraf einen Desinfektor M., gleichfalls im Zivilberufe Laboratoriumsdiener, welcher die Arbeit des Br. nach dessen Erkrankung übernahm.

Er erkrankte am 28. XI. 1915 mit Fieber und Halsschmerzen. Am 3. XII. erfolgte seine Aufnahme in das benachbarte Lazarett in H.

Seine Krankengeschichte sei im Auszuge beigefügt:

3. XII. Aufnahmebefund: Mittelkräftig, etwas blaß. Sichtbare Schleimhäute sehr blaß, Conjunctiva nicht gelblich verfärbt. Pupillen gleich weit, reagieren prompt. Zunge wenig belegt, feucht. Hals: Schleimhäute der Gaumenbögen und des Zäpfchens stark geschwollen und gerötet. Kein Belag. Ueber den Lungen verschiedene bronchitische Geräusche, sonst o. B. Herz: Grenzen nicht verbreitet. Töne rein. Puls kräftig, regelmäßig. Leib: Leber nicht geschwollen, nicht druckempfindlich. Milz: nicht vergrößert, fühlbar, perkutorisch nicht vergrößert. Am Penis eine gut verheilte Narbe (Schußnarbe), ebenso am rechten Oberschenkel. Geschlechtsorgane frei. Urin: Eiweiß plus, Reflexe o. B., keine Oedeme.

Diagnose: Halsentzündung.

Therapie: Zweistündlich Halspackungen, Chinin, Gurgelwasser.

5. XII.: Heute fieberfrei. Halsrötung fast verschwunden. Im Urin sparsam Eiweiß. Milz: nicht vergrößert. Gestern Blutentnahme, keine Gelbfärbung der Schleimhäute, kein Durchfall. Stuhl, Urin und Blutgalle werden eingeschickt. (Für Typhus abdominalis keine Anhaltspunkte.)

10. XII.: Allgemeinbefinden gut, steht auf.

14. XII.: Während der letzten Tage Allgemeinbefinden sehr gut, kein Fieber, keine Klagen. Im Urin kein Eiweiß und Zucker. Heute Abend klagt Pat. über Stechen in den Augen, besonders rechts. Die Bindehaut beider Augen ist gerötet, sonst am Auge nichts Krankhaftes nachweisbar. Erhält Borwasserumschläge nachts, Zinc.-sulf. Einträufelungen.

15. XII.: Heute Augenbefund besser, jedoch treten am Nachmittage wieder Schmerzen auf, heute abend leichte Trübung der Linse beiderseits. Keine Synechien.

16. XII.: Heute morgen größere Schmerzen in beiden Augen, beiderseits deutliche Trübung der Linse und hintere Synechien.

Diagnose: Zentraler Kapselstar mit hinteren Synechien beiderseits. Im Urin trotz wiederholter Untersuchung kein Eiweiß, kein Zucker nachweisbar. Innere Organe o. B.

17. XII.: Wird heute zur spezialärztlichen Behandlung in die Augenklinik des Kriegslazaretts L. aufgenommen. Beiderseits leichte Ciliarinjektion. Pupillen ziemlich eng, reagieren. Auf der Vorderkapsel beiderseits ringförmig angeordnete Pigmentreste. Behandlung: Atropin, warme Umschläge, Schutzbrille.

21. XII.: Pupillen beiderseits gut erweitert, nur mäßige Reizerscheinungen.

26. XII.: Entzündungserscheinungen im Rückgange.

31. XII.: Nur noch ganz geringe Ciliarinjektion beiderseits.

3. I.: Beide Augen reizlos.

5. I.: Entlassungsbefund: Beide Augen reizlos, Pupillen mittelweit, reagieren prompt. S. beiderseits 5/5.

Patient wird kriegsverwendungsfähig (frontdienstfähig) zur Truppe entlassen.

Da auch hier der Verdacht auf Laboratoriumsinfektion ausgesprochen wurde, war am 1. Tage seiner Erkrankung, am 28. XI., durch Aderlaß entnommenes defibriniertes Blut zwei Meerschweinchen i.p. eingespritzt worden. Beide Tiere waren am 5. XII. gelb und tot und boten bei der Sektion das typische Bild der Weilschen Krankheit. Die Leber der Tiere enthielt massenhaft Spirochäten.

Auffallend ist auch bei diesem Kranken, daß keine deutliche ikterische Verfärbung während der Krankheit beobachtet wurde¹⁾. Trotzdem gegenüber dem behandelnden Arzte auf die Möglichkeit einer Laboratoriumsinfektion hingewiesen wurde, konnte aus den klinischen Befunden kein Anhaltspunkt dafür gewonnen werden. Bei ihm setzte an Stelle des erwarteten typischen Rezidivs im Beginne der 3. Woche eine Iritis ein.

So werden zweifelhafte Fälle unter Umständen durch die Tierimpfung aufgeklärt werden können. Manche als katarrhalischer Ikterus diagnostizierte Fälle werden sich als Weilsche Krankheit herausstellen. Auch der infektiöse Ikterus der Kinder, sowie andere mit Ikterus einhergehende Krankheitserscheinungen (auch „Gelbfieber“) werden vielleicht durch den Tierversuch weitere Aufklärung finden.

Wie die Beobachtung gezeigt hat, ist der Nachweis des Virus im Blute des Kranken nur in den ersten Tagen der Krankheit aussichtsreich. Blutproben, im späteren Verlauf, besonders auch zu Beginn der Rezidive entnommen, haben sich im Tierversuch als avirulent erwiesen. Es empfiehlt sich daher, bei verdächtigen Kranken Venenblut so früh als möglich zu entnehmen. 5—10 ccm Blut, in einem sterilen Kölbchen mit Glasperlen oder auch in einem mit Kork- oder Gummistopfen versehenen sterilen Reagenzröhrchen aufzufangen, werden, durch genügend langes, kräftiges Schütteln

1) Nach Hecker und Otto verliefen bei der Hildesheimer Epidemie 30 Proz. (6) der Fälle ohne Ikterus.

defibriniert, dem Laboratorium zur Verimpfung auf Meer-schweinchen übersandt. Da das Virus nicht selten außer im Blut auch im menschlichen Urin gefunden wird, so kommt auch die Uebersendung aseptisch entnommenen Urins in Frage. Im Notfalle würde die intraperitoneale Impfung eines Meer-schweinchens mit 2—3 ccm Blut genügen. Man tut gut, außerdem noch ein Meerschweinchen mit 1—2 ccm Blut intracardial zu spritzen. Beweisend ist natürlich nur ein positives Ergebnis. Frühestens nach 5 Tagen wird ein positives Ergebnis zu erwarten sein. Eine negative Diagnose ist in der Regel nicht vor Ablauf von 14 Tagen zu stellen, da die Virulenz resp. die Menge der im verimpften Blut vorhandenen Erreger unter Umständen so gering ist, daß die Tiere später erkranken.

Die Krankheit ließ sich nun leicht in Passagen fortführen. Wir haben das Virus bis jetzt in 18 Fällen zum Teil bis zur 27. Passage fortgezüchtet (siehe Stammbaum in der Anlage). Die Tiere erkrankten regelmäßig nach 4 bis 6 Tagen und boten stets den typischen Sektionsbefund¹⁾. Damit war bewiesen, daß der Krankheitsstoff ein vermehrungsfähiges Virus ist.

Es handelte sich nun darum, über die Natur und die biologischen Eigenschaften dieses vermehrungsfähigen Virus Aufschluß zu erhalten. Wir vermuteten zunächst, daß es sich um ein filtrierbares Virus handle, wie es beim Gelbfieber, das mit der Weilschen Krankheit gewisse Aehnlichkeit hat, als Ursache angenommen wird. Die von uns in dieser Richtung ausgeführten Versuche mit unverdünntem oder mit durch Kochsalzlösung verdünntem Meer-schweinchenvirus verliefen negativ. Die mit dem gleichen unfiltrierten Material gespritzten Tiere erkrankten regelmäßig und starben.

Als Virus diente defibriniertes Blut in der Agone geschlachteter Meerschweinchen, das zentrifugiert und dann nach etwaiger Verdünnung mit steriler physiologischer Kochsalzlösung durch von uns geprüfte Berkefeld-Filter (Liliputkerzen) filtriert wurde. Die Prüfung der Filter geschah durch Zusatz von Colibakterien.

1) Es ist auch mehrfach vorgekommen, daß die Passagen abrisen (s. Anlage).

Filtrat-Versuche.

Folgende Versuche wurden angestellt:

I. Versuchsreihe (14. IX. 1915).

1) Blut von Patient Sch. defibriniert, zentrifugiert. Das abzentrifugierte Serum wird filtriert. Vom Filtrat, dessen Kulturkontrolle steril bleibt, werden eingespritzt:

a) Affe 3: 4,0 ccm, verteilt zu gleichen Teilen, in die Oberschenkel. Affe bleibt gesund. Keine Temperaturerhöhung.

b) 1 Meerschweinchen: 0,8 ccm i.p., bleibt gesund.

2) Blut Sch. mit Aqu. dest. zu gleichen Teilen aufgelöst und filtriert. Filtrat nicht steril. Es wurden behandelt:

a) Affe 4: 5,0 ccm Filtrat in die Oberschenkel. Affe machte vor Impfung kränklichen Eindruck (Durchfall). Tot am 29. IX. Blutungen in der Lunge ähnlich dem Befunde bei ikterischen Meerschweinchen. Kein Ikterus. Organe steril.

b) 1 Kaninchen: 2,0 ccm i.v. Blieb gesund.

c) 1 kleines Meerschweinchen: 2,0 ccm i.p. Gesund.

d) 2 Mäuse: je 0,5 ccm s.k. Blieben gesund.

3) Kontrolle: 1 Meerschweinchen 2,0 ccm defibriniertes Blut Sch. i.p. Tot am 26. IX., typischer Befund.

II. Versuchsreihe (27. IX. 1915).

Von defibriniertem Blut des Pat. See. — 3 Stunden nach Entnahme — werden 6 ccm versetzt mit 5 ccm NaCl und 10 ccm Aqu. dest. und durch Berkefeld-Kerze filtriert. Filtrat steril. Davon werden gespritzt:

a) 1 großes Meerschweinchen: 4,0 ccm i.p. Bleibt gesund. Wird am 14. X. mit 1 ccm Virusblut i.p. nachgeimpft, am 19. X. gelb, am 20. X. tot. Typischer Befund.

b) 1 kleines Meerschweinchen: 4,0 ccm i.p. Am 5. X. tot. Kein Ikterus. Kultur steril.

c) Kontrolle: 4 Meerschweinchen mit reinem, defibriniertem Blut See. zum Teil i.p., zum Teil i.c. geimpft, sämtlich nach 5–6 Tagen typisch erkrankt.

III. Versuchsreihe (3. X. 1915).

8 ccm defibriniertes Blut von ikterischem Meerschweinchen (Passage I See.) werden mit 12 ccm Aqu. dest. versetzt (Blut aufgelöst); davon:

Kontrolle 1: Meerschweinchen 1,5 ccm i.c.; gestorben 6. X. Befund negativ. Kulturen steril.

Kontrolle 2: Meerschweinchen mit reinem Blut gespritzt, nach 5 Tagen typisch erkrankt.

a) Nach Filtration; Filtrat nicht steril:

1 Meerschweinchen 1,5 ccm i.c. Blieb gesund. Am 1. XI. mit 1 ccm virushaltigem Leberbrei nachgeimpft. Am 7. XI. ikterisch. Befund typisch.

b) 1 Meerschweinchen 3 ccm i.p. Blieb gesund. Desgleichen nachgeimpft mit dem Ergebnis wie bei a.

IV. Versuchsreihe (4. X. 1915).

Von Mischblut von 2 Meerschweinchen (1. Passage See.) werden 4,0 ccm Serum abzentrifugiert, mit 4 ccm NaCl versetzt; davon als Kontrolle

1 Meerschweinchen 2 ccm i.p. Am 11. X. gelb; typischer Befund. Vom Filtrat, das sich kulturell nicht steril erwies,

a) 1 Meerschweinchen 2,5 ccm i.p., gesund geblieben. Am 1. XI. mit 1,0 ccm virushaltigem Leberbrei nachgeimpft, am 2. XI. tot. Partus. Befund negativ.

b) 1 Meerschweinchen 1 ccm i.p. Am 17. X. gelb, am 18. X. tot. Befund typisch.

V. Versuchsreihe (19. X. 1915).

Mischblut (Meerschweinchen) vom 19. X., davon Serum abzentrifugiert. Von diesem Serum erhält:

Meerschweinchen 65: 1,0 ccm i.p., gelb am 29. X., getötet. Befund typisch. Spir. (Leber) +, Niere +¹⁾.

Meerschweinchen 66: 1,0 ccm i.p., gelb am 27. X., tot am 29. X. Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Das Serum wird versetzt mit 2 Oesen Coli, mit NaCl $\frac{1}{10}$ verdünnt und filtriert. Die eine Hälfte I durch Kerze a (Filtrat steril), die andere Hälfte II durch Kerze b (Filtrat = Coli +).

I. Meerschweinchen 67: 2,0 ccm i.c. (= 1,0 Serum), dauernd gesund. 4. XII. nachgeimpft. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

Meerschweinchen 68: 3,25 ccm i.p. (= 1,65 Serum), dauernd gesund. 4. XII. nachgeimpft. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

II. Meerschweinchen 79: 2,0 ccm i.c. (= 1,0 Serum), dauernd gesund. 4. XII. nachgeimpft. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Auf Spir. nicht untersucht.

Meerschweinchen 80: 2,0 ccm i.p. (= 1,0 Serum), dauernd gesund.

4. XII. nachgeimpft. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

VI. Versuchsreihe (30. X. 1915).

Serum von Mischblut (Meerschweinchen) vom 30. X. durch Kerze a filtriert (Filtrat steril). Vom unfiltrierten Serum werden geimpft:

Meerschweinchen 228: 1,5 ccm i.p. 5. XI. gelb — getötet; typischer Befund, Spir. (Leber) ++.

Meerschweinchen 229: 0,8 ccm i.p. 3. XI. gelb, 4. XI. tot; typischer Befund, Spir. (Leber) ++.

Vom filtrierten Serum wurden geimpft:

Meerschweinchen 226: 2,0 ccm i.c., gesund.

11. XII. nachgeimpft 2,0 ccm Leber i.p. 19. XII. gelb. † Befund typisch, Spir. (Leber) ++.

1) Auch nachdem wir die Spirochäten als Erreger entdeckt hatten, wurden noch weitere Filtrationsversuche angestellt.

Meerschweinchen 227: 4.0 ccm i.p., gesund.

11. XII. nachgeimpft 2,0 ccm Leber i.p. 18. XII. gelb. † Befund typisch, Spir. (Leber) +.

VII. Versuchsreihe (3. XII. 1915).

Mischblut von Meerschweinchen 929, 930, 931, 933, 935 wird 1:1 mit NaCl-Lösung verdünnt, zentrifugiert und dann filtriert (Filtrat steril).

Unfiltriert i.p.

Meerschweinchen 72: 9. II. gelb. † Befund typisch, Spir. (Leber) +.

Meerschweinchen 73: 14. II. gelb. † Befund typisch.

Filtriert i.p.

Meerschweinchen 74: Gesund. 6. III. kränklich. 10. III. †, nicht gelb. Befund negativ.

Meerschweinchen 75: Gesund. Am 31. III. nachgeimpft. 9. IV. †, nicht gelb, aber positive Lunge.

Die Filtratversuche mußten besonders im Anfang unter den äußerst schwierigen Verhältnissen des Feldes ausgeführt werden. Das positive Ergebnis des Versuches aus der Versuchsreihe IV ist nicht einwandfrei, weil im Filtrat Bakterien nachgewiesen wurden. Alle übrigen Versuche haben ergeben, daß im Filtrat das Virus nicht nachweisbar war.

Aus diesen Versuchen schlossen wir, daß es sich bei der Weilschen Krankheit nicht um ein filtrierbares Virus handelt. Es konnte danach ein ultravisibles Virus nicht in Frage kommen. Das ermutigte uns, die mikroskopische Untersuchung der Organe energisch wieder aufzunehmen. Wir suchten in den Organen der an der Krankheit eingegangenen Meerschweinchen nach dem fraglichen Erreger und fanden so gut wie regelmäßig in allen Tieren, besonders in der Leber, **Spirochäten**.

Die Formen sind sehr fein, zart und schlank. Sie zeigen im gefärbten (Giemsa-)Präparat¹⁾ (Leber-, Blutausstrich) keine typischen Windungen, wie etwa die Pallida- oder Recurrens-spirochäten, vielmehr weisen sie bizarre Schlängelungen, Krümmungen, Ringformen und Schleifenbildungen auf, bisweilen sieht man an beiden Enden eine Krümmung nach der

1) 1 Tropfen Giemsa-Lösung auf 1,0 ccm dest. Wasser. Wir haben die Präparate über Nacht in der Farblösung liegen lassen.

Als Schnellfärbemethode eignet sich ausgezeichnet die Fontanasche Versilberungsmethode (s. Arbeit von Hage: Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 20, Feldärztl. Beilage).

gleichen Richtung, so daß kleiderbügelartige Formen entstehen. An den Enden zeigen sich häufig kleinste knopfartige Verdickungen, die sich bisweilen auch in der Mitte oder mehr nach den Enden zu finden. Hier und dort sieht man auch kleine ösenartige Gebilde an einem Ende (s. Fig. 6 u. 7, sowie 9—15). Die Mikroorganismen zeigen verschiedene Länge. Meist sind sie länger als der Durchmesser einer roten Blutzelle, bisweilen so lang wie der Umfang eines roten Blutkörperchens. Oft sind sie kurz und kommaförmig. In Giemsa-Präparaten sind sie blaßrötlich gefärbt, ähnlich wie die Pallida. Bisweilen ist das Protoplasma nicht gleichmäßig gefärbt. Die sonst gebräuchlichen Färbemethoden führen nicht zum Ziel. Es gelang allerdings, nach mehrstündiger Färbung mit verdünnter Karbolfuchsinlösung die Spirochätenform schwach sichtbar zu machen. Auch in Schnitten von Meerschweinchenlebern sind die Parasiten durch Levaditi-Färbung dargestellt worden (Fig. 7). Wir verdanken die Herstellung der Präparate der Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Chiari. In diesen Präparaten sind die gleichen Formen erkennbar, wie wir sie in den Giemsa-Präparaten sehen; nur scheinen sie entsprechend der Färbemethode dicker.

Im Dunkelfelde von Leberaufschwemmungen bewegen sich die Parasiten mit wurmähnlichen Krümmungen, zum Teil rollenden Bewegungen, mäßig lebhaft durchs Gesichtsfeld. Sie treten wegen ihrer Feinheit nicht so deutlich hervor, wie etwa die Recurrensspirochäten oder die Pallida, indem sie sich nur in matterem Lichte zeigen. An den Enden sieht man bisweilen stärker lichtbrechende Körnchen. Auch sieht man hier und da — besonders bei den Kulturspirochäten (s. u.) — sehr feine, enge Windungen. Manche Lebern erweisen sich bei Dunkelfeldbetrachtung von lebenden Spirochäten fast vollkommen durchsetzt, während wieder andere nur wenige erkennen lassen.

Es mußte nun der Beweis erbracht werden, daß diese Gebilde in der Tat als **Erreger der Krankheit** anzusehen sind. Dafür sprach zunächst die Tatsache, daß die Spirochäten regelmäßig¹⁾ in den un-

1) In den wenigen Fällen, wo keine Spirochäten nachgewiesen wurden, war die Färbung mißglückt. In einzelnen Fällen, wenn die Tiere nach dem Gelbwerden noch einige Tage am Leben bleiben, scheint eine Auflösung der Spirochäten durch lytische Stoffe (eventuell auch Gallenfarbstoffe), die sich im Blutserum bilden, zu erfolgen.

mittelbar von kranken Menschen aus infizierten Meerschweinchen gefunden wurden. Normale Meerschweinchen (es wurden im ganzen 25 vollständig gesunde Meerschweinchen und zahlreiche an anderen Krankheiten gestorbene Tiere daraufhin untersucht) enthalten keine Spirochäten. Auch zahlreiche mit normalem Menschenblut und Blut von an anderen Krankheiten leidenden Menschen geimpfte Meerschweinchen waren stets frei von Spirochäten.

Auffallend war zunächst, daß wir diese Parasiten in dem Blute kranker Menschen, das wir mehrfach, allerdings erst bei den Zeichen deutlicher Gelbsucht, untersuchten, mikroskopisch nicht fanden. Aber auch im virulenten Blut von ikterischen Meerschweinchen, deren Lebern reichlich Spirochäten enthielten, ist es oft schwer, Spirochäten nachzuweisen. Jedoch gelang es, im Leberschnitt eines an Gelbsucht gestorbenen Menschen mit Levaditi-Färbung die beschriebenen Spirochäten aufzufinden¹⁾. In einem anderen Falle konnten wir durch Giemsa-Färbung mehrere Spirochäten in einem Leberausstrich einer menschlichen Leiche zur Darstellung bringen. Das sind beweisende Befunde. Wahrscheinlich lassen sich die Parasiten im Blut nur zeitweise und ganz vereinzelt im Beginn der Erkrankung finden, vielleicht noch bevor der Ikterus auftritt. Führt doch auch die Verimpfung großer Mengen von Blut kranker Menschen längst nicht immer zu positiven Ergebnissen. Es ist sehr wohl möglich, daß bei den zur Sektion kommenden menschlichen Fällen, die fast regelmäßig aus den späteren Stadien der Krankheit stammen, die Spirochäten meist schon aus der Leber verschwunden sind, indem sie durch die sich während der Krankheit im Blute bildenden bakteriziden Stoffe aufgelöst werden.

Auch die mehrfach vorgenommene Verimpfung von Organbrei an der Krankheit gestorbener Menschen führte wohl aus demselben Grunde bisher zu negativem Ergebnis (s. unten). Sektionsmaterial aus den ersten Tagen der Krankheit stand uns für solche Verimpfungen nicht zur Verfügung.

Der Nachweis der Spirochäten der Weilschen Krankheit gelingt in der Meerschweinchenleber dagegen durch Giemsa²⁾- oder Levaditi-Färbung

1) Auch bei einem weiteren menschlichen Falle gelang der Nachweis der Spirochäten in der Leber (nach Levaditi).

2) Auch durch Fontanasche Färbung s. p. 336 Anmerkung.

mit der größten Regelmäßigkeit. Die Parasiten scheinen für das Lebergewebe eine besondere Avidität zu besitzen; dort reichern sie sich an. In der Leber sehen wir auch sehr häufig kleine nekrotische, gelbgraue oder gelbrötliche Herde (s. oben und Fig. 2, Taf. II).

Um festzustellen, wann die Spirochäten nach der Impfung in der Leber des Meerschweinchens erscheinen, haben wir folgende Versuche angestellt.

Es werden am 20. X. 1915 Meerschweinchen 96 und 97 mit 2,0 ccm virulenten Mischblutes i.p. infiziert. Jeden Tag wird bei Meerschweinchen 96 und 97 die Leber punktiert, der Punktionssaft auf Objektträger ausgestrichen und nach Giemsa gefärbt.

Meerschweinchen 96:	Meerschweinchen 97:
21. X. Präparat 0	21. X. Präparat 0
22. X. „ 0	22. X. „ 0
23. X. „ 0	23. X. „ 0
24. X. „ 0	24. X. „ 0
25. X. Das Tier ist gelb, Präparat +; stirbt noch am selben Tage (typischer Befund).	25. X. + Spirochäten, Tier noch nicht gelb
	26. X. gelb: Präparat +
	27. X. †, Sektion: typischer Befund (Spirochäten im Dunkelfeld!).

Der mikroskopische Nachweis im Leberpunktionssaft gelang also bei beiden Tieren am 5. Tage nach der (intra-peritonealen) Impfung, an dem eins der Tiere bereits gelbe Skleren zeigte, das andere noch nicht gelb war. Wie aus nachstehender Versuchsreihe zu ersehen ist, sind bereits 3 Tage nach der Infektion (intracardial) in durch Sektion gewonnenen Leberausstrichen Spirochäten nachweisbar. Die Leberpunktion ergibt somit unsichere Resultate und ist für die Diagnostik nur beschränkt brauchbar. In dem durch Punktion gewonnenen nur spärlichen Material läßt sich anscheinend der Nachweis der Spirochäten erst führen, wenn diese reichlich vorhanden sind.

Die Punktionsversuche waren mit Rücksicht auf die eventuelle diagnostische Brauchbarkeit der Leberpunktion beim Menschen von Interesse. Wir sind durch die Liebenswürdigkeit der Herren eines Feldlazarets, Oberstabsarzt Herbach und Dr. Kaufmann, mehrfach in der Lage gewesen, Punktionsmaterial menschlicher Lebern zu untersuchen. Das Resultat war stets negativ.

Das negative Ergebnis dürfte vielleicht damit zusammenhängen, daß das durch die Punktion gewonnene Lebergewebsmaterial zu spärlich ist und Spirochäten entsprechend den Befunden bei der Meerschweinchenleberpunktion nur bei reichlichem Vorkommen mikroskopisch nachgewiesen werden.

Wahrscheinlich ist aber auch die Quantität und die Verteilung der Spirochäten im menschlichen Körper eine andere.

Darüber fehlen noch systematische Untersuchungen.

Zur Feststellung, wann die Spirochäten in der Leber infizierter Tiere nachweisbar sind, wurden weiterhin folgende Versuche angestellt.

21. X. 1915. 12 Meerschweinchen werden mit je 1,0 ccm Mischblut am 21. X. i.c. infiziert (mittags 12 Uhr). Jeden Tag wird ein Tier (resp. mehrere Tiere) getötet. Die Leber wird mit physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und auf frische Meerschweinchen intraperitoneal verimpft.

1. Tötung: 3 Uhr (Leber: Spir. 0).
Meerschw. 118: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.
 2. Tötung: 7 Uhr (Leber: Spir. 0).
Meerschw. 120: 2,0 ccm i.p. 30. X. gelb. † Befund typisch.
 3. Tötung: 11,30 Uhr (Leber: Spir. 0).
Meerschw. 124: 2,0 ccm i.p. 26. X. gelb. † Befund typisch.
 22. X. 4. Tötung: mittags (Leber: Spir. 0).
Meerschw. 125: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben (refraktär?).
 5. Tötung: 7 Uhr (Leber: Spir. 0).
Meerschw. 141: 2,0 ccm i.p. 28. X. gelb. † Befund typisch.
 23. X. 6. Tötung: 12,50 Uhr (Leber: Spir. 0).
Meerschw. 146: 2,0 ccm i.p. 29. X. gelb? 30. X. gelb. † Befund typisch.
 24. X. 7. Tötung: 12,50 Uhr (Leber: Spir. +).
Meerschw. 164: 2,0 ccm i.p. 29. X. gelb. † Befund typisch.
- Das Tier der 7. Tötung war noch nicht gelb — ebenso wie die unter 1—6 — zeigte in den Lungen aber schon hämorrhagische Herde, sonst negativer Befund (Leber: Spir. +).
25. X. 8. Tötung: 12,15 Uhr (Leber: Spir. +). Das Tier ist schwach gelb, Lunge typische Herde, Nieren hämorrhagisch, Nebennieren mit einzelnen Blutungen, Leber o. B.
Meerschw. 172: 2,0 ccm i.p. 21. X. gelb. † Befund typisch.
 26. X. 9. Tötung: 12,30 Uhr (Leber: Spir. +). Das Tier ist gelb, Lunge mit typischen Herden, Niere und Nebenniere mit Blutungen, Leber o. B.
Meerschw. 174: 2,0 ccm i.p. 31. X. gelb. † typischer Befund.

27. X. 10. Tötung: 12 Uhr (Leber: Spir. +). Das Tier ist gelb, typischer Befund.

Meerschw. 196: 2,0 ccm i.p. 2. XI. gelb. † typischer Befund.

Die beiden noch übrig gebliebenen Meerschweinchen sind am 26. X. an Ikterus gestorben.

Ergebnis: Die mikroskopische Untersuchung der Leber der getöteten Tiere ergibt bei der 7. Tötung zum ersten Male positiven Spirochätenbefund in der Leber. Also 3 Tage nach der Infektion, zu einer Zeit, wo das Tier zwar noch nicht gelb war, aber bei der Sektion schon die ersten Zeichen der Erkrankung (Lungenherde) aufwies.

Bei den Tieren der Tötung 8—10 konnten regelmäßig die Spirochäten in der Leber, zum Teil auch in der Niere nachgewiesen werden.

Der Tierversuch mit Leberbrei führt bereits 7 Stunden nach der Infektion zum Ziele, während in der Leber eines 3 Stunden nach der Infektion getöteten Tieres Virus noch nicht nachweisbar war. Es hat also 7 Stunden nach der Infektion eine Vermehrung der Spirochäten in der Leber stattgefunden, wenn man nicht annehmen will, daß die anfangs noch im Blute kreisenden eingespritzten Spirochäten sich erst allmählich nach Verlauf von mehr als 3 Stunden in der Leber angesiedelt haben. Die Stunden-Versuche über das Erscheinen des Virus im Blut sprechen indes dafür, daß eine Vermehrung der Spirochäten (im Blut) stattgefunden hat.

Zur Beantwortung der Frage, wann die Spirochäten zuerst im Blute nachweisbar sind, wurden mikroskopische Untersuchungen wie auch Tierimpfungen vorgenommen.

a) Wann gelingt der mikroskopische Nachweis der Spirochäten im Blute geimpfter Meerschweinchen?

2 Meerschweinchen (No. 194 und 195) werden am 26. X. infiziert; täglich werden Blutpräparate aus der Ohrvene gemacht und nach Giemsa gefärbt.

- | | |
|--------------------------------|--------------------------|
| I. 26. X. vor der Infektion | 0 |
| II. 27. X. Blutpräparate | 0 |
| III. 28. X. „ | 0 |
| IV. 29. X. „ | 0 |
| V. 30. X. in beiden Präparaten | vereinzelte Spirochäten. |

VI. 31. X. in beiden Tieren vereinzelt Spirochäten.

VII. 1. XI. beide Tiere gelb. Vereinzelt Spirochäten. Am 2. XI. beide †.

Ergebnis: Es gelingt mithin, vom 4. Tagenach der Infektion an im Ohrvenenblut von Meerschweinchen Spirochäten mikroskopisch nachzuweisen.

b) Wann gelingt der Nachweis des Virus im Blut der geimpften Meerschweinchen durch Tierimpfungen?

Von 2 geimpften Meerschweinchen (I und II) wird jeden Tag Blut aus dem Herzen entzogen und auf frische Meerschweinchen i.c. resp. i.p. verimpft.

I.	II.
Meerschweinchen, braun, am 10. X. 1915 infiziert i.p.	Meerschweinchen, braunschwarz, am 10. X. 1915 infiziert i.p.
11. X. 0	11. X. 0
12. X. 0	12. X. 0
13. X. 0	13. X. 0
14. X. 0	14. X. 0
15. X. gelb	15. X. gelb
16. X. entblutet (Befund typisch)	16. X. entblutet (Befund typisch)
1) Am 11. X. 1,0 ccm Blut von Meerschw. I auf Meerschw. i.p. 20. X. gelb 21. X. † Befund typisch	1) Der Versuch, Herzblut von Meer- schweinchen II zu bekommen, schlägt fehl
2) Am 12. X. 1,0 ccm Blut von Meerschw. I auf Meerschw. i.c. 20. X. ? 21. X. gelb, entblutet. Befund typisch	2) Von Meerschw. II auf Meerschw. 1,0 ccm Blut i.c. 18. X. gelb 19. X. † Befund typisch
3) Am 13. X. 1,0 ccm Blut von Meerschw. I auf Meerschw. i.p. 20. X. gelb 21. X. entblutet. Befund ty- pisch	3) Von Meerschw. II auf Meerschw. 1,0 ccm Blut i.p. 19. X. gelb 20. X. † typischer Befund
4) Am 14. X. 1,0 ccm Blut von Meerschw. I auf Meerschw. i.p. 20. X. gelb 21. X. entblutet (Befund typisch)	4) Versuch der Blutentnahme schlägt fehl
5) Am 15. X. 1,0 ccm Blut von Meerschw. I auf Meerschw. i.c. 20. X. gelb, entblutet (Befund typisch)	5) Von Meerschw. II auf Meerschw. 0,75 ccm i.c. 20. X. gelb 21. X. † Befund typisch

- | | |
|--|---|
| 6) Am 16. X. 1,0 ccm Blut von
Meerschw. I auf Meerschw. i.c.
Bleibt gesund (refraktär) | 6) Von Meerschw. II auf Meerschw.
1,0 ccm i.c.
20. X. gelb
21. X. † Befund typisch |
|--|---|

Ergebnis: Demnach kreist das Virus vom 1. Tage nach der Infektion im Blute der Meerschweinchen. Die Krankheitsdauer der mit Blut von Meerschweinchen I geimpften Meerschweinchen verkürzt sich von 9—10 Tagen allmählich auf die gewöhnliche Zeit des Verlaufes von 5 Tagen. Bei den mit Blut von Meerschweinchen II infizierten Tieren ist der Unterschied in der Krankheitsdauer weniger ausgesprochen. Die geringere Virulenz des Blutes in den ersten Tagen der Krankheit wird darauf zurückzuführen sein, daß das Virus anfangs nur in spärlicher Menge im Blute kreist und allmählich zunimmt.

Vorstehende Versuche zeigen, daß nach künstlicher Infektion sehr bald eine Ansiedlung des Virus in den Organen stattfindet. Bei Einimpfung in die Blutbahn gelangen die Spirochäten naturgemäß unmittelbar in sämtliche Organe. Die Versuche über den Nachweis des Virus im Blute ergaben, daß in den ersten Stunden nach der Infektion das einverleibte Virus aus der Blutbahn verschwindet. Nach 3 Stunden setzt eine Ueberschwemmung des Kreislaufes mit Spirochäten ein. Die anfänglich geringere Virulenz des Blutes nimmt bis zum Tode der Tiere zu. Nach intraperitonealer Einspritzung von Leberbrei waren die Spirochäten 7 Stunden nach der Infektion in der Leber nachweisbar.

Für die praktische Diagnostik der Weilschen Krankheit beim Meerschweinchen wichtig ist der auch aus diesen Versuchen sich ergebende Vorteil des Tierversuches. Der mikroskopische Nachweis der Spirochäten gelingt naturgemäß erst bei verhältnismäßig reichlicher Anwesenheit von Spirochäten. Während der Tierversuch mit Blut bereits nach 1 Tag, mit Leberbrei bereits nach 7 Stunden nach der Infektion positiv ausfiel, ließ sich der mikroskopische Nachweis erst nach 5, bzw. 3 Tagen führen. Die Unvollkommenheit des mikroskopischen Nachweises erklärt vielleicht zum Teil auch die Schwierigkeit, im menschlichen Material (Leber, Blut) Spirochäten im Ausstrich nachzuweisen.

Die Beobachtung, daß die Leber vorzugsweise, beinahe ausschließlich die Fundstätte mikroskopisch nachweisbarer Spirochäten abgab, veranlaßte uns, **Untersuchungen über das Vorkommen von Spirochäten auch in anderen Organen** an Weilscher Krankheit zugrunde gegangener Meerschweinchen mit Hilfe des Tierversuches anzustellen. Es wurden zwei Versuchsreihen angesetzt.

Nachweis des Virus in den verschiedenen Organen der an Ikterus erkrankten Meerschweinchen.

9. XI. 1915. Organe von einem an Ikterus gestorbenen Meerschweinchen werden einzeln herausgenommen und gründlich mit physiologischer NaCl gewaschen, im Mörser fein verrieben und in physiologischer NaCl aufgeschwemmt. Impfung auf frische Tiere und mikroskopische Untersuchung.

I. Versuch.

Organe von Meerschweinchen	Mikroskop. Befund (Giemsa-Präparat)
1) Lunge (ein Flügel): Meerschweinchen 385 i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch.	0
2) Milz (ganzes Organ): Meerschweinchen 386 i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
3) Niere (ganzes Organ): Meerschweinchen 387 i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.	0
4) Nebennieren (beide): Meerschweinchen 388 i.p. 17. XI. ? 18. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
5) Oberschenkelmuskel (bohnen großes Stück): Meerschweinchen 389 i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
6) Herz (ganz): Meerschweinchen 390 i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
7) Gehirn (bohnen großes Stück): Meerschweinchen 391 i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
8) Pankreas (ganz): Meerschweinchen 392 i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.	

Organe von Meerschweinchen	Mikroskop. Befund (Giemsa-Präparat)
9) Zwei Cöcaldrüsen (bohngengroß): Meerschweinchen 393. 16. XI. gelb. † Befund ty- pisch. Spir. (Leber) +.	0
10) Knochenmark (erbsengroßes Stück): Meerschweinchen 394. 18. XI. gelb. † Befund ty- pisch. Spir. (Leber) +.	0
11) Leber (2 Nieren groß): Meerschweinchen 396. 14. XI. gelb. † Befund ty- pisch. Spir. (Leber) +.	Spir. +

II. Versuch.

Organe von Meerschweinchen 9. XI. 1915.	Mikroskop. Befund (Giemsa-Präparat)
1) Niere: Meerschweinchen 398 i.p. 18. XI. 0. 22. XI. 0.	0
2) Milz: Meerschweinchen 399 i.p. 10. XI. †. Spir. (Leber) +.	0
3) 2 Nebennieren: Meerschweinchen 400 i.p. 15. XI. †. Befund ty- pisch. Spir. (Leber) +.	0
4) Herz (ganz): Meerschweinchen 401 i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.	0
5) Leber (Stück so groß wie Milz): Meerschweinchen 402 i.p. 14. XI. gelb. Spir. (Leber) +.	Spir. +
6) Muskel (Oberschenkel), bohngengroß: Meerschweinchen 403 i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
7) Niere (zweite): Meerschweinchen 404 i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch.	0
8) Lunge (ein Flügel): Meerschweinchen 405 i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.	0
9) Gehirn (bohngengroßes Stück): Meerschweinchen 406 i.p. 18. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.	0
10) Knochenmark (Röhrenknochen): Meerschweinchen 407 i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
11) Pankreas: Meerschweinchen 406 i.p. 18. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.	0

Organe von Meerschweinchen	Mikroskop. Befund (Giemsa-Präparat)
12) Hoden (ein ganzer): Meerschweinchen 395 i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0
13) Linsen (beide): Meerschweinchen 411 i.p. 0. 22. XI. gesund.	0
14) Kammerwasser + Glaskörper: Meerschweinchen 412 i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	0

Ergebnis: Die Versuche zeigen, daß das Virus mit Ausnahme der Linse in allen Organen nachweisbar ist. Die Anhäufung der Spirochäten in der Leber ist deutlich: Mikroskopisch ließen sich in diesen Fällen die Spirochäten **nur** in der Leber finden. Sonst fanden wir sie mikroskopisch bisweilen auch in der Niere, Lunge und Gallenblase. Auch der Tierversuch mit Leberbrei, der schneller als bei den mit anderen Organen geimpften Tieren zum Ergebnis führte, spricht für die Anhäufung des Virus in der Leber¹⁾.

Legt man die Krankheitsdauer als Maßstab der Virulenz der einzelnen Organe zugrunde, so erweist also die Leber die größte Virulenz (5 bzw. 5 Tage). Es folgen Niere (6 bzw. 6), Milz (6), Lunge (6 bzw. 7), Cöcaldrüsen (7), Hoden (7), Nebennieren (9 bzw. 6), Knochenmark (9 bzw. 6), Pankreas (7 bzw. 9), Muskel (8 bzw. 8), Herz (8 bzw. 8), Kammerwasser-Glaskörper (8).

Genaue Schlüsse über die Infektiosität der verschiedenen Organe lassen sich naturgemäß aus vorstehenden Versuchen nicht ziehen. Quantitativ sind die zur Verimpfung gelangten Mengen der einzelnen Organe erheblich voneinander verschieden. Betrug die verimpfte Menge Knochenmark z. B. 1 Teil, so verhielten sich die Mengen der anderen Organe etwa wie 1:8 (Niere), 1:4 (Milz), 1:12 (Lunge), 1:2,5 (Nebennieren), 1:6 (Hoden), 1:3 (Pankreas), 1:8 (Muskel), 1:8 (Herz), 1:2 (Kammerwasser-Glaskörper), 1:10 (Leber). Man könnte sagen, daß das an Volumen 10mal so große Leberstück gegenüber dem Knochenmark auch in höherem Grade infektiös sein müßte.

1) In der Leber des Fötus eines an Ikterus gestorbenen Meerschweinchens waren Spirochäten mikroskopisch nicht nachweisbar, wohl aber durch den Tierversuch. Das Muttertier hatte massenhaft Spirochäten in der Leber.

Das trifft aber nur bis zu einem gewissen Grade zu. Durch die Versuche über Verimpfung massiver Dosen konnten wir feststellen, daß die quantitativen Verhältnisse des Virus nur in beschränktem Maße Einfluß auf die Dauer des Krankheitsverlaufes haben. Eine Abkürzung der Krankheit durch große Impfdosen gelingt nicht (s. unten p. 350). Wohl läßt sich, wenn die Virusmenge unter eine bestimmte Grenze heruntergeht, der Exitus hinausschieben. Abgesehen davon, daß eine exakte vergleichende Dosierung bei Verimpfung verschiedener Organe auch wegen der unterschiedlichen Zusammensetzung der Gewebe nicht möglich ist, sind also wesentliche Virulenzunterschiede durch quantitative Verschiedenheiten der einzelnen verimpften Organstücke nicht anzunehmen und somit ist ein annähernder Vergleich wohl statthaft.

Das Virus der Weilschen Krankheit, das außer in der Linse in allen Organen des Meerschweinchenkörpers nachgewiesen wurde, gelangt offenbar auf dem Wege der Blutbahn in die einzelnen Organe. Sie ist als Septikämie aufzufassen.

Alle diese Tatsachen sprechen dafür, daß die von uns beschriebenen Spirochäten eine **ätiologische Bedeutung** für die Weilsche Krankheit besitzen. Es lassen sich aber noch mehr Beweise dafür erbringen. Wir haben im Laufe unserer Untersuchungen Laboratoriumsinfektionen beobachtet. 2 Laboratoriumsgehilfen, die lediglich mit kranken Tieren zu tun hatten, sind an Weilscher Krankheit erkrankt (s. oben p. 330–332). Eine andere Infektionsquelle ist ausgeschlossen. Das spirochätenhaltige Meerschweinchenvirus hat in diesen Fällen die Infektion dieser Menschen hervorgerufen. Das Blut der Leute, auf Meerschweinchen verimpft, hat wiederum bei diesen Tieren Ikterus mit Spirochätenbefund erzeugt. Dadurch ist die ätiologische Bedeutung der Spirochäten als Erreger der Weilschen Krankheit besonders gekennzeichnet¹⁾. Bei den menschlichen Infektionen erfolgte die Ansteckung höchstwahrscheinlich dadurch, daß in dem einen Fall virushaltiges Meerschweinchenblut gelegentlich der Verimpfung dem Mann ins Auge spritzte²⁾. Die Infektion des anderen Falles erfolgte offenbar durch Hautrisse

1) Das Nähere siehe Arbeit von Goebel, l. c.

2) 12–14 Tage vor der Erkrankung (Inkubation!).

an den Fingern („aufgesprungene Hände“), wobei die Weisung, Gummihandschuhe zu tragen, wohl außer acht gelassen worden war. Dieser Infektionsmodus entspricht dem künstlich von uns hervorgerufenen. Es gelingt nämlich, bei Meerschweinchen bereits durch Einträufelung von Virus in den Conjunctivalsack sowie durch Einreibung in die skarifizierte Haut eine Infektion herbeizuführen. Die Spirochäten wandern schnell in den Körper ein. Die Verhältnisse scheinen hier ähnlich zu liegen, wie bei Recurrens. Schon geringe Mengen genügen offenbar zur Infektion. Ein Stich mit einer in Venenblut getauchten Nadel genügt schon zur Infektion eines Meerschweinchens. Auch erzielten wir, um einen Biß nachzuahmen — durch einen Scherenschlag in die Haut — und Einreibung eines Tropfens Virusblut schon eine Infektion. Kein Wunder, daß auch in einem Seuchenstall, in dem schwerkranke Meerschweinchen untergebracht waren, gesunde Tiere sich gelegentlich infizieren können.

Ueber die **Infektionswege** und **quantitativen Verhältnisse** bei der Infektion geben folgende Versuche näheren Aufschluß.

Was zunächst die quantitativen Verhältnisse anbetrifft, so mußte die Frage: Wieviel Virusblut genügt zur Infektion? beantwortet werden.

8. X. 1915. I. Versuche mit defibriniertem Blut bei intraperitonealer Einspritzung.

- 1) 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm physiologischer NaCl:
Meerschweinchen i.p. 12. X. gelb. † Befund typisch.
- 2) 0,5 ccm Virusblut + 1,5 ccm physiologischer NaCl:
Meerschweinchen i.p. 13. X. gelb. 14. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 3) 0,1 ccm Virusblut (1,0 ccm 1:10) + 1,0 ccm physiologischer NaCl:
Meerschweinchen i.p. 13. X. gelb. 15. X. † Befund typisch.
- 4) 0,01 ccm Virusblut (1,0 ccm 1:100) + 1,0 ccm physiologischer NaCl:
Meerschweinchen i.p. 15. X. gelb. † Befund typisch.
- 5) 0,001 ccm Virusblut (1,0 ccm 1:1000) + 1,0 ccm physiologischer NaCl
Meerschweinchen i.p. Gesund geblieben. 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei nachgeimpft i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

11. X. 1915. II. Versuche mit abzentrifugiertem Serum bei intraperitonealer Einspritzung.

- 1) Meerschweinchen: 1,5 ccm Serum i.p. 17. X. gelb. 18. X. † Befund typisch.

- 2) Meerschweinchen: 0,5 ccm Serum + 0,5 ccm physiologischer NaCl i.p. 17. X. gelb. 18. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 3) Meerschweinchen: 0,1 ccm Serum + 0,9 ccm physiologischer NaCl i.p. 22. X. gelb. 23. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
- 4) Meerschweinchen: 0,01 ccm Serum + 0,99 ccm physiologischer NaCl i.p. 21. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 5) Meerschweinchen: 0,001 ccm Serum + 0,999 ccm physiologischer NaCl i.p. 21. X. gelb. 22. X. † Befund typisch.

11. X. 1915. III. Versuche mit gewaschenen Blutkörperchen.
Waschung mit physiologischer NaCl 12—15 mal (Dauer:
4 Stunden) und zentrifugiert.

- 1) Meerschweinchen: 1,5 ccm Blutkörperchen + 0,5 ccm physiologischer NaCl i.p. 21. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 2) Meerschweinchen: 0,5 ccm Blutkörperchen + 0,5 ccm physiologischer NaCl i.p. 19. X. gelb. † Befund typisch.
- 3) Meerschweinchen: 0,1 ccm Blutkörperchen + 0,9 ccm physiologischer NaCl i.p. 19. X. gelb. 20. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
- 4) Meerschweinchen: 0,01 ccm Blutkörperchen + 0,99 ccm physiologischer NaCl i.p. 21. X. gelb. † Befund typisch.
- 5) Meerschweinchen: 0,001 ccm Blutkörperchen + 0,999 ccm physiologischer NaCl i.p. 21. X. gelb. † Befund typisch.

Ergebnis: Was also die zur Infektion notwendige Blutmenge betrifft, so genügt nach den bisherigen Versuchen bei intraperitonealer Impfung 0,001 ccm Blut eines schwerkranken, vor dem Exitus entbluteten Meerschweinchens zur Weiterimpfung.

Vergleichende quantitative Untersuchungen ergaben, daß gewaschene Blutkörperchen und Serum von Meerschweinchen in gleicher Weise bis herab zu Mengen von 0,001 ccm infektiös sind.

Stärkere Verdünnungen wurden bisher nicht geprüft.

Jedoch sei hier auf die schon erwähnte, unten näher beschriebene Tatsache hingewiesen, daß schon ein Stich mit einer in Virusblut getauchten Nadel genügt hat, um eine Infektion beim Meerschweinchen hervorzurufen (s. p. 354). Offenbar sind minimale Virusmengen zur Infektion ausreichend.

Wie eine Reihe von Tierversuchen zeigt, wird der sonst so regelmäßig beobachtete Krankheitsverlauf von 5—7 Tagen unter Umständen (z. B. durch Abschwächung des Virus mittels

Chemikalien, Antikörper) nicht unwesentlich verlängert (siehe unten), so daß der Tod des Tieres 3—4 Wochen später eintritt. Es handelt sich in diesen Fällen offenbar um ein in seiner Quantität bzw. in seiner Virulenz verändertes Virus. Es war nun von Interesse, festzustellen, ob es auch umgekehrt gelingt, durch Steigerung der Dosen den normalen Krankheitsverlauf abzukürzen.

Wir haben zur Entscheidung dieser Frage folgende Versuche angesetzt:

Versuch I.

10. XI. 1915. Konzentrierter Leberbrei.

- 1) Meerschw. 419: 0,5 ccm i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
- 2) Meerschw. 420: 2,0 ccm i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
- 3) Meerschw. 421: 3,0 ccm i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.
- 4) Meerschw. 422: 5,0 ccm i.p. 15. XI. gelb. 16. XI. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Versuch II.

10. XI. Konzentrierter Leberbrei.

- 1) Meerschw. 436: 2,0 ccm i.p. 14. XI. gelb. † Befund typisch. Auf Spir. nicht untersucht.
- 2) Meerschw. 78: 10,0 ccm i.p. 16. XI. nicht gelb, o. B., verdicktes Peritoneum. Spir. 0.

Die Inkubation wird also nach diesem Versuche durch massive Dosen nicht verkürzt.

Weiter waren Versuche über Infektionswege beim Meerschweinchen anzustellen.

Die sicherste Infektionsart ist nach unseren Versuchen die intracardiale Einspritzung von 1—2 ccm Virusblut, das entweder durch Herzpunktion direkt vom kranken Tier entnommen oder durch Entbluten eines getöteten Tieres (in die Brusthöhle) und Defibrinieren gewonnen wird. Auch die intraperitoneale Einspritzung führt zum Ziele, jedoch erkranken die Tiere später als nach der intracardialen Infektion.

Bisweilen sind intraperitoneal geimpfte Tiere auch gesund geblieben, während die mit dem gleichen Virus und derselben Menge intracardial gespritzten Meerschweinchen erkrankten. Wir haben das besonders bei primären Verimpfungen menschlichen Blutes auf Meerschweinchen mehrere Male gesehen (s. unter „positive Fälle“).

Die subkutane und intramuskuläre Einspritzung sind nicht ganz so zuverlässig.

Vergleich zwischen der intraperitonealen, subkutanen und intramuskulären Einspritzung.

Versuch I (13. X. 1915).

- I. Meerschweinchen (Kopf rot): 1,0 ccm intraperitoneal. 18. X. 1915 gelb. 19. X. † typischer Befund. Spir. (Leber) ++.
- II. Meerschweinchen (Rücken rot): 1,0 ccm subkutan, bleibt gesund.
1. XI. mit 1,0 ccm Leberbrei i.p., gesund (immunisiert), s. p. 400.
19. XI. 2,0 ccm (Blut + Leber) i.p., gesund.
- III. Meerschweinchen (hinten rot): 1,0 ccm intramuskulär, bleibt gesund.
1. XI. mit 1,0 ccm Leberbrei i.p., gesund (immunisiert), s. p. 400.
19. XI. 2,0 ccm (Leber + Blut) i.p., gesund.
27. XI. getötet, Blut für Titrationsversuch genommen (27. XI.), siehe unter Immunität (s. p. 398).

Das mit Leberbrei geimpfte Kontrolltier vom 1. XI. erkrankte typisch.

Es ist wohl anzunehmen, daß die unter II und III genannten Tiere eine latente Erkrankung durchgemacht haben und dadurch aktiv immun geworden sind (s. unten).

Versuch II (Mischblut vom 28. X. 1915).

1. Intraperitoneal.

28. X. 1915. Meerschw. 209: 2,0 ccm i.p. 4. XI. gelb. 5. XI. † typischer Befund. Spir. (Leber) ++++.
- Meerschw. 210: 2,0 ccm i.p. 5. XI. gelb. † typischer Befund. Auf Spir. nicht untersucht.

2. Subkutan.

- Meerschw. 211: 2,0 ccm s.k. 6. XI. gelb. † typischer Befund. Spir. (Leber) +.
- Meerschw. 212: 2,0 ccm s.k. 6. XI. gelb. † typischer Befund. Spir. (Leber) +.

3. Intramuskulär.

- Meerschw. 213: 2,0 ccm i.m. 6. XI. gelb. † typischer Befund. Spir. (Leber) +.
- Meerschw. 214: 2,0 ccm i.m. 4. XI. gelb. 5. XI. † typischer Befund. Spir. (Leber) +.

Aus den vergleichenden Untersuchungen über intraperitoneale, subkutane und intramuskuläre Impfung ergibt sich also, daß die subkutane und die intramuskuläre Impfung nicht ganz so zuverlässig sind wie die intraperitoneale. In der ersten Versuchsreihe bei Verimpfung von 1 ccm Virusblut

erkrankten die subkutan und intramuskulär geimpften Tiere nicht. Es scheint zwar, daß sie eine leichte, durch sichtbare Kennzeichen nicht zum Ausdruck gekommene (latente) Erkrankung durchgemacht haben und dadurch immun geworden sind, da eine 18 Tage später erfolgte Nachimpfung mit virulentem Leberbrei keine Krankheitserscheinungen verursachte. Bei Verimpfung einer größeren Virusgabe in der zweiten Versuchsreihe dagegen ist ein Unterschied der intramuskulären und subkutanen Impfung gegenüber der intraperitonealen nicht zu beobachten. Für die direkte Impfung vom Menschen ist die intracardiale Methode als die sicherste unter allen Umständen zu empfehlen. Für die Weiterzüchtung des Virusblutes empfehlen wir die Einspritzung je eines Tieres intracardial (1,5 ccm) und intraperitoneal (2,0 ccm). Steht für die Weiterimpfung des Virus spirochätenhaltiges Lebermaterial zur Verfügung, so ist der intraperitonealen Einspritzung der Vorzug zu geben, da bei der intracardialen Injektion von Leberaufschwemmung die Meerschweinchen bekanntlich häufig akut eingehen (Organgifte!).

Infektion durch die unverletzte Augenschleimhaut¹⁾.

Versuch I.

11. X. 1915. 2 Meerschweinchen (a und b) wird in beide Augen je 1 Tropfen Virusblut geträufelt.

Meerschweinchen a: bleibt gesund. 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 8. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschweinchen b: 22. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Versuch II.

10. XI. 1915. Der Versuch wird in gleicher Weise angestellt wie sub I. Meerschw. 449: in beide Augen Virusblut, gesund.

Kontrolle (für Virulenz des Blutes): Meerschw. 446: typisch erkrankt. 19. XI. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Versuch III.

2. XI. 1915. Es wird Blut (3 Tropfen) in die Conjunctiva beider Augen eingeträufelt.

Meerschw. 555: 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 556: 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 557: 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrolle für Virulenz des Blutes: Meerschw. 558: 1,0 ccm i.p. 6. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

1) Auch durch Impfung in die vordere Augenkammer lassen sich Meerschweinchen infizieren (Versuche von Prof. Hertel).

Infektion durch die skarifizierte Haut.

11. X. 1915. Blutmischung vom 11. X. 1915.

Die Bauchhaut von 2 Meerschweinchen wird rasiert und skarifiziert und 2,0 ccm Blut mit Gummifinger 5 Minuten lang eingerieben. Es wird ein Schutzverband angelegt, damit eine Infektion per os vermieden wird.

Meerschw. 1: 19. X. gelb. 20. X. † Befund typisch.

Meerschw. 2: 21. X. gelb. 24. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Infektion durch die nicht skarifizierte, rasierte Haut.

Die Bauchhaut von 2 anderen Meerschweinchen wird rasiert. Keine sichtbaren Verletzungen.

0,2 ccm des gleichen Blutes mit Gummifinger eingerieben (5 Minuten lang). Schutzverband.

Meerschw. 3: gesund geblieben. 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 4: gesund geblieben. 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Infektion durch eine Scherenschlagwunde.

Es wird — um einen Biß nachzuahmen — einem Meerschweinchen ein leichter Scherenschlag beigebracht, der mit 1 Tropfen Virusblut infiziert wird.

3. III. Meerschw. 153: 12. III. gelb. † Befund typisch.

Infektion durch Stich mit einer infizierten Kanüle.

Bei 2 Meerschweinchen gelang die intracardiale Einspritzung von Virusblut nicht. Die Kanüle wurde nach Einstich in die Herzgegend wieder herausgezogen: 21. X. 1915.

Meerschw. 109: 28. X. gelb. † typischer Befund. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 110: 28. X. gelb. † typischer Befund. Spir. (Leber) ++.

Infektion durch Einstich einer in Virusblut getauchten Nadel.

Eine Nadel wird in Virusblut getaucht und am 3. III. 1916 Meerschweinchen 152 in die Haut gestochen. 12. III. gelb. † Befund typisch.

Von Infektionsversuchen per os, die in letzter Zeit — bisher nur in beschränkter Zahl — vorgenommen werden konnten, war einer positiv¹⁾.

Ergebnis: Vorstehende Versuche beweisen, daß das Virus der Weilschen Krankheit die Augen-

1) Die Fütterung erfolgte in diesem Falle mit der Schlundsonde. Versuche mit natürlicher Fütterung (mit Leberbrei getränktes Brot) und Infektion per anum (Sonde) verliefen bisher negativ. Bei der Nachimpfung erkrankten die Tiere.

schleimhaut, die Schleimhaut des Digestions-traktus, sowie die skarifizierte Bauchhaut des Meerschweinchens zu durchdringen und infizierend zu wirken vermag. Die unverletzte Bauchhaut erwies sich nach unseren wenigen Versuchen als nicht durchgängig. Ein mit Virusblut infizierter Scherenschlag, eine mit virulentem Virusblut benetzte Kanüle, in die Herzgegend einem Meerschweinchen kurz eingestochen, ebenso der Einstich einer mit Virusblut benetzten Nadel genügte für die Infektion des Tieres.

Das Ergebnis dieser letztgenannten Versuche ist von Interesse für die Bedeutung etwaiger Zwischenträger bzw. Ueberträger bei der Erkrankung des Menschen, wie sie besonders von Hecker und Otto bei der Uebertragung der Weilschen Krankheit angenommen werden. Dieser Infektionsmodus scheint uns auch der wahrscheinlichste. Wir sind damit beschäftigt, diese Frage weiter zu klären.

Versuche über natürliche Infektion im Seuchenstall.

In eine Bucht, in der dauernd schwerkranke Meerschweinchen sich befinden, werden am 1. X. 1915 2, am 21. X. 1915 4 gesunde Meerschweinchen gesetzt.

Diese Tiere bleiben bei mehrmonatiger Beobachtung gesund.

Am 6. XII. 1915 werden folgende gesunde Tiere in denselben Seuchenstall gesetzt: Meerschweinchen 648, 649, 650, 651, 652.

Am 21. XII. Meerschweinchen 651 gelb. † Befund typisch. Spir. 0.

21. XII. Leber verimpft auf Meerschw. 849 und 850: beide gesund.

Am 21. XII. Meerschweinchen 652 gelb. † Befund typisch. Spir. +.

Leber verimpft auf:

Meerschw. 851: 29. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 852: 29. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
--	--

Ergebnis: Es hat hier offenbar eine natürliche Infektion stattgefunden, die allerdings selten vorzukommen scheint. In welcher Weise die Ansteckung erfolgt ist, läßt sich nicht sagen. Da das Virus mit dem Urin¹⁾ der Tiere

1) Auch mit den Faeces werden die Erreger ausgeschieden. Faeces von an Weilscher Krankheit gestorbenen Meerschweinchen, in NaCl aufgeschwemmt und gesunden Meerschweinchen i.p. eingespritzt, erwiesen sich

(s. oben und Protokolle) ausgeschieden wird, ist eine Infektion durch die Schleimhäute (per os, Augenschleimhaut) oder durch die verletzte Haut am wahrscheinlichsten. Eine Bißverletzung resp. Narbe konnte nicht nachgewiesen werden. Eine Infektion durch Zwischenträger ist auch nicht auszuschließen, da schon minimale Mengen Virus zur Infektion ausreichen (s. oben Stichversuch). Mehrere mit Meerschweinchenläusen von an Ikterus gestorbenen Meerschweinchen angestellte Versuche (Einspritzung der zerkleinerten Läuse in die Bauchhöhle gesunder Meerschweinchen) führten allerdings zu keinem positiven Ergebnis. Auch Mücken, die in Seuchengegenden gefangen waren, wurden Meerschweinchen eingespritzt. Das Ergebnis war aber negativ.

Beim Menschen sind Ansteckungen von Person zu Person von uns nicht beobachtet und kommen jedenfalls wohl selten vor.

Wohl aber haben wir, wie erwähnt, zwei Laboratoriumsinfektionen gesehen, die von Goebel in der Med. Klinik, 1916, No. 15, eingehend beschrieben sind (s. oben).

Alle diese angeführten Versuche sprechen auch für die Erregernatur der Spirochäten.

Einen weiteren schlagenden Beweis für die ätiologische Bedeutung der Spirochäten erblicken wir in dem Nachweis spezifischer Antikörper im Rekonvaleszenten-serum (s. unten).

Vermischt man, wie wir unten des näheren ausführen werden, Rekonvaleszentenserum mit spirochätenhaltigem Meerschweinchenblute und spritzt dieses Gemisch nach längerem Stehen gesunden Meerschweinchen in die Bauchhöhle, so er-

nach unseren kürzlich angestellten Versuchen als infektiös. Da auch die Galle das Virus enthält, ist das nicht auffallend.

Es soll ferner noch bemerkt werden, daß durch Verimpfung, intra-peritoneal und in die vordere Augenkammer von Meerschweinchen, Prof. Hertel (Straßburg) den Nachweis gebracht hat, daß auch das Konjunktivalsekret, das besonders im Endstadium der Erkrankung reichlich sein kann, infektiös ist. Die geimpften Tiere gingen unter typischen Erscheinungen ein, die Spirochäten ließen sich einwandfrei in der Leber nachweisen. Ausführlicher wird Hertel über die Versuche im Zusammenhang mit anderen, hauptsächlich ophthalmologisch interessanten Beobachtungen in Graefes Archiv für Ophthalmologie berichten. Die Versuche wurden im Hygienischen Institut und in der Augenklinik zu Straßburg ausgeführt.

kranken die Tiere nicht, während nach Einspritzung eines Gemisches von normalem Menschen Serum und Virusblut die Tiere regelmäßig an Ikterus erkranken und sterben. Auch bei getrennter Einspritzung erzielt man den gleichen Effekt. Ferner können Tiere, die infiziert sind, am 3. Tage nach der Infektion durch Einspritzung von Rekonvaleszentenserum vor dem Ausbruch des Ikterus noch sicher geschützt werden.

Wird das Rekonvaleszentenserum Meerschweinchen erst im letzten Stadium der Erkrankung kurz vor dem Tode, wenn der Ikterus schon stark ausgesprochen ist, eingespritzt, so ist eine Rettung zwar nicht mehr möglich, und auch verständlich wegen der schweren Veränderungen in den inneren Organen, jedoch werden bei derartig schwerkranken Tieren die Spirochäten durch das eingespritzte Rekonvaleszentenserum noch in typischer Weise beeinflusst. Man kann hier die spezifische Serumwirkung direkt unter dem Mikroskop *ad oculos* demonstrieren.

Da unsere diesbezüglichen Versuche wohl den besten Beweis für die spezifische Bedeutung der Spirochäten als Erreger der Weilschen Krankheit erbringen, möchten wir unsere Protokolle hier sprechen lassen.

Protokolle.

I. Serie.

Am 2. XI. 1915 mittags 12 Uhr werden gelbe ikteruskranke Tiere mit Rek.-Serum, teils behandelt, zum Teil unbehandelt, zur Kontrolle sitzen gelassen.

Meerschweinchen 243, gelb: 2,0 ccm Rek.-Serum (Patient Ing., s. p. 367). 3. XI. † morgens während der Visite. Befund typisch. Spir. (Leber) 0.

Leber verimpft auf:

Meerschw. 256: 2,0 ccm i.p. An Meerschw. 257: 2,0 ccm i.p. Gesund. 6. XII. nachgeimpft. Typisch erkrankt.
Seuche † 8. XI.

Meerschweinchen 244, gelb: 2,0 ccm Rek.-Serum (Patient Ing.). 3. XI. über Nacht gestorben. Befund typisch. Spir. (Leber) 0.

Kontrollen.

Meerschweinchen 208, gelb, ohne Serum: 3. XI. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschweinchen 245, gelb, ohne Serum: 3. XI. stirbt bei Visite. Spir. (Leber) ++.

3. XII. Meerschweinchen werden mit 0,2 ccm Leber (von 503 und 523) i.p. infiziert. Am 7. XII. 1915 sind gelb 572, 574, 577, 579.

Es erhalten 2,0 ccm Rek.-Serum:

Meerschweinchen 577, gelb. 8. XII. lebt, gelb. 9. XII. † (über Nacht), gelb. Spir. 0.

Meerschweinchen 572, gelb. 8. XII. † (über Nacht), gelb. Spir. 0.

Es erhalten 0,2 ccm Normal-Menschen Serum am 7. XII. 10 Uhr vormittags:

Meerschweinchen 579, gelb. 8. XII. † (über Nacht), gelb. Spir. ++.

Meerschweinchen 574, schwach gelb. 8. XII. † (über Nacht), gelb. Spir. ++.

II. Serie derselben Infektionsreihe.

Es erhalten 2,0 ccm Rek.-Serum am 7. XII. nachmittags 5,30 Uhr:

Meerschweinchen 578, gelb? 8. XII. gelb. 9. XII. † (über Nacht), gelb. Befund typisch. Spir. 0.

Meerschweinchen 575, gelb. 8. XII. gelb. 9. XII. † (über Nacht), gelb. Befund typisch. Spir. ++ (Versager!) Infektion zu stark.

Meerschweinchen 580, gelb. 8. XII. gelb. 9. XII. † (über Nacht), gelb. Befund typisch. Spir. 0.

Es erhalten 2,0 ccm Normalserum:

Meerschweinchen 571, gelb. 8. XII. gelb. 9. XII. † (über Nacht), gelb. Spir. +++.

Meerschweinchen 573, gelb. 8. XII. gelb. 9. XII. † (über Nacht), gelb. Spir. +++.

Am 30. X. 1915 werden Meerschweinchen 535—550 infiziert.

Am 4. XII. 1915 sind

gelb	noch nicht gelb
Meerschweinchen 537	Meerschweinchen 536
„ 539	„ 538
„ 540	„ 541
„ 542	„ 543
„ 544	„ 550
„ 545	
„ 546	
„ 548	
„ 551	
„ 552	

Es werden eingespritzt 4. XII. mit 2,0 ccm Rek.-Serum i.m.:

gelbe Tiere	Befund	Spir. (Leber)
537	5. XII. lebt, gelb, entblutet	0
539	5. XII. † gelb	ganz spärlich (schwach gefärbt)
540	5. XII. † gelb	sehr spärlich (nach langem Suchen)
544	5. XII. † gelb	2 Spir. nach langem Suchen (Zufall)
552	5. XII. lebt, gelb, entblutet	0
noch nicht gelbe Tiere		
536	5. XII. nicht gelb, lebt	9. XII. gesund, geheilt
538	5. XII. nicht gelb, lebt	9. XII. gesund, geheilt
541 (i.p.)	5. XII. gelb, entblutet	0

Die Tiere
bleiben
dauernd
gesund

Es werden am 4. XII. eingespritzt mit 2,0 ccm Normal-Menschen-serum i.m.

gelbe Tiere	Befund	Spir. (Leber)
542	5. XII. † gelb	++
545	5. XII. lebt, gelb, entblutet	++
546	5. XII. † gelb	++
548	5. XII. † gelb	++
551	5. XII. † gelb	++
noch nicht gelbe Tiere		
543	5. XII. lebt, nicht gelb	
	8. XII. † gelb	++++
550	5. XII. † gelb	++
10. XII. 1915. 10 Meerschweinchen werden heute i.p. mit Leber infiziert: 738—747.		
14. XII. Mererschw. 746	gelblich	} erhalten 2,0 ccm Rek.-Serum i.m. (Mischserum Frankfurt und Hei.) abends 6 Uhr
" 741	"	
" 744	"	
	746. 16. XII. gelb, tot.	Befund typisch. Spir.-Präparat schlecht, nichts zu sehen.
	741. 16. XII. gelb, tot.	Befund typisch. Spir. (Leber) +.
	744. 16. XII. gelb, tot.	Befund typisch. Spir. vereinzelt.
15. XII. Meerschw. 743	gelb	} erhalten 2,0 ccm Rek.-Serum i.m.
" 739	gelblich	
" 742	gelb	
" 740	"	
	743. 16. XII. gelb, tot.	Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
	739. 16. XII. gelb, tot.	Befund typisch. Spir. + spärlich.
	742. 16. XII. gelb, tot.	Befund typisch. Spir. 0.
	740. 16. XII. gelb, tot.	Befund typisch. Spir. (Leber) vereinzelt.

Kontrollen.

745 unbehandelt, am 16. XII. noch nicht gelb. 17. XII. gelb, tot. + Befund typisch. Spir. +.

738 unbehandelt, am 17. XII. noch nicht gelb. Spir. +.

Alle diese Tatsachen dürften mit mathematischer Sicherheit den Beweis erbracht haben, daß die von uns entdeckten Spirochäten als die Erreger der Weilschen Krankheit anzusehen sind¹⁾.

1) Siehe auch Uhlenhuth und Fromme, Die experimentellen Beweise für die Erreger-Natur der Spirochaete der Weilschen Krankheit. Festschr. für O. Madelung (Beiträge zur klinischen Chirurgie).

Wir nennen sie „Spirochäte der Weilschen Krankheit“¹⁾ oder „*Spirochaete icterogenes*“ (Uhlenhuth-Fromme).

Als wir unsere Untersuchungen im Dezember 1915 aus äußeren Gründen zunächst abbrechen mußten, waren wir nicht mehr in der Lage, unsere begonnenen Kulturversuche fortzusetzen. Nachdem wir unserem Stamm an das Kaiserl. Gesundheitsamt abgegeben hatten, ist es dort Ungermann gelungen, die Spirochäte in verschiedenem Serum unter anaëroben Bedingungen zu züchten und mit dieser Kulturspirochäte die Krankheit bei Meerschweinchen wieder zu erzeugen. Dadurch ist ein weiterer Beweis für die Richtigkeit unserer Behauptung erbracht. Wir können diese Befunde nunmehr vollkommen bestätigen.

**Kultur unserer „Spirochäte der Weilschen Krankheit“²⁾
(*Spirochaete icterogenes*).**

Kulturen wurden angelegt zunächst in Kaninchenserum. Dieses wird in der Weise gewonnen, daß mit einer sterilen Spritze lebenden Kaninchen Blut direkt durch Herzpunktion entnommen wird (20—30 ccm).

Das Serum, das sofort frisch verwendet wird, wurde nach Absitzenlassen zentrifugiert und je 2,0 ccm in sterile Reagenzgläser gefüllt. Infiziert werden diese Röhrchen mit je 5 Tropfen Lebersaft mittels einer feinen sterilen Kapillare. Das Lebermaterial wird in der Weise gewonnen, daß eine Leber eines schwerkranken Meerschweinchens, in einer sterilen Petrischale zerschnitten und mit steriler NaCl-Lösung versetzt, ca. 1 Stunde sedimentiert wird.

Auch zentrifugiertes und mit gleichen Teilen NaCl-Lösung versetztes Blut schwerkranker Tiere wurde in gleicher Weise zur Infektion der Röhrchen verwendet. Die Röhrchen werden mit je 10 ccm sterilem Paraffinöl übergossen und bei Temperaturen unter 37° (30—35°) bebrütet. Nach 10 Tagen wurde erstmalig im Dunkelfeld untersucht; es hatte eine Anreicherung stattgefunden, die dann weiter zunahm. Am 17. Tage wurde die Kultur auf neue Röhrchen weiterverimpft und in Passagen weitergezüchtet. Statt reinen Kaninchensерums haben

1) Die Bezeichnung „*Spir. nodosa*“, die Hübener und Reiter für den von uns entdeckten Erreger in unberechtigter Weise (Med. Klinik, 1916, No. 31) gewählt haben, halten wir für unzutreffend, da „Knotenbildung“ auch bei anderen Spirochäten beobachtet wird.

2) Diese Kulturversuche sind im Frühjahr 1916 im Hygienischen Institut zu Straßburg ausgeführt.

wir mit Vorteil auch einen Zusatz von Glycerinbouillon (Glycerin und Bouillon, äa etwa 0,2 ccm) zu 2,0 ccm Kaninchenserum benutzt. Auch steriles Meerschweinchenserum wurde verwendet. Peinlich sterile Arbeit ist die Vorbedingung für das Gelingen der Kultur. Eine Trübung der Serumröhrchen beruht auf bakterieller Verunreinigung. Die Spirochäten trüben die Nährböden im allgemeinen nicht.

Mit den Kulturspirochäten geimpfte Meerschweinchen erkranken an Ikterus in typischer Weise. Es genügen schon minimale Mengen zur Infektion.

Immunität.

Wie bereits erwähnt, sind im **Serum von Weil-Rekonvaleszenten Immunkörper nachweisbar**. Wir wollen auf diese Frage nunmehr an der Hand unserer Protokolle im folgenden näher eingehen.

I. Versuch vom 10. X. 1915.

Fall Hei. Beginn am 5. IX. 1915 mit Frösteln, Glieder- und Kopfschmerzen. Durchfall bestand seit einiger Zeit. Lazarettaufnahme am 9. IX. 1915.

10. IX. Beginnender Ikterus. Druckempfindlichkeit der Gallenblasengegend. Benommenheit. Blutiger Auswurf.

11. IX. Im Erbrochenen blutige Streifen. Schweres Krankheitsgefühl.

17. IX. Entfiebert.

25. IX. Noch große Schwäche.

20. X. Leber noch druckempfindlich.

20. XI. Gelbfärbung fast gänzlich geschwunden. Mattigkeit und Schwäche bestehen noch.

Patient erholt sich allmählich von dem schweren Verlauf der Krankheit.

10. X. 1915. Serum inaktiviert, mit Virusblut gemischt. Mischung steht $\frac{1}{2}$ Stunde.

Meerschweinchen: 3,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 13. XI. gelb. † Befund typisch. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Meerschweinchen: 2,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Meerschweinchen (Kontrolle): 3,0 ccm Normals Serum (Br.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 15. X. gelb. 17. X. † Befund typisch. Auf Spirochäten nicht untersucht.

II. Versuchsreihe vom 20. X. 1915.

Rekonvaleszenten sera, inaktiviert mit Virusblut gemischt. Mischung steht $\frac{1}{2}$ Stunde.

1) Fall Bar. Beginn am 13. VII. 1915 mit Durchfall, Erbrechen, Mattigkeit, Beinschmerzen, Husten. Bei Lazarett-aufnahme am 17. VII. leichter Ikterus, Bronchopneumonie, im Urin reichlich Eiweiß.

23. VII. Wadenschmerzen. Starker Ikterus.

26. VII. Höhepunkt der Gelbfärbung. Hautjucken.

Nach einem durch Temperaturanstieg sich äußernden Rezidiv mit Höhepunkt am 30. VII. allmählicher Uebergang in Genesung.

a) Meerschw. 99: 2,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

b) Meerschw. 100: 3,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

2) Fall Mül. (s. p. 372, 375). Beginn am 14. VII. 1915 mit Frösteln, Schwindelanfällen, Kopf-, Rücken- und Halsschmerzen. In der Beobachtungsstation am 18. VII. Ikterus. Lazarett-aufnahme am 20. VII. Hochgradiger Ikterus. Druckempfindlichkeit der Leber, der Waden und Oberschenkel. Im Urin Eiweiß.

31. VII. Milz palpabel.

3. VIII. Ikterus läßt nach.

6. VIII. Brechreiz; graugrüner Auswurf. Herpes.

29. VIII. Gelbfärbung hält an. Temperatur noch leicht erhöht.

12. IX. Haarausfall.

2. X. mit leichtem Ikterus dem Erholungsheim überwiesen.

Meerschw. 101: 2,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 102: 3,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 9. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

3) Fall Gr. (s. p. 364, 372). Beginn am 7. VIII. 1915 plötzlich mit Frösteln und Kopfschmerzen. Bei Lazarettaufnahme am 14. VIII. leichter Ikterus, Conjunctivitis, geringe Druckempfindlichkeit der Wadenmuskulatur. Am 26. VIII. vorübergehender Temperaturanstieg. Wieder Druckempfindlichkeit der Lebergegend.

12. IX. Gelbfärbung verschwunden. Leichter Fall. Uebergang in Genesung.

Meerschw. 105: 2,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 9. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 106: 3,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 9. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen:

Meerschw. 103: 2,0 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut i.p.
25. X. gelb. † Befund typisch 26. X.

Meerschw. 104: 2,5 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut i.p.
25. X. gelb. 26. X. † Befund typisch.

III. Versuchsreihe vom 4. XI. 1915.

Rekonvaleszentensera inaktiviert, gemischt mit Virusblut. 1 Stunde stehen gelassen. Die Röhrchen werden mit NaCl auf 5,0 ccm aufgefüllt.

Meerschw. 261: Fall Wil. (s. p. 368, 381, 383), 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 262: Fall Döt. (s. p. 368, 381, 383), 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 263: Fall Schik. (s. p. 368), 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 264: Fall Wack. (s. p. 368), 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 16. XII. †, nicht gelb. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 265: Dieselben Rek.-Sera gemischt: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb, †. Spir. (Leber) +.

Dieselben filtrierten (Berkefeld) Rekonvaleszentensera mit 0,5 Proz. Karbol versetzt. Mischung 1 Stunde stehen gelassen.

Meerschw. 276: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

11. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen:

Meerschw. 275: 4,0 ccm NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. 9. XI. gelb.

10. XI. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 273: 2,0 ccm Normalserum (von Typhusrekonvaleszent) + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb, †, Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 274: 4,0 ccm Normalserum (von Typhusrekonvaleszent) + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

IV. Versuchsreihe vom 11. XI. 1915 (1—16).

Rekonvaleszentensera. Serum abgenommen am 10. XI. 1915, nicht inaktiviert, ohne Karbol, nicht filtriert; Mischung von Rekonvaleszentenserum und Virus 1 Stunde stehen gelassen.

1) Fall Schä. (s. p. 372, 374, 456): Serum sehr stark ikterisch.

Meerschw. 456: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 21. XI. †, nicht gelb, o. B. Seuche, Spir. 0.

2) Fall Stru.: Serum ikterisch.

Meerschw. 457: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 21. XI. †, nicht gelb, o. B. Seuche, Spir. 0.

3) Fall Lor. (s. p. 372): Serum ikterisch.

Meerschw. 458: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 14. XI. †, ohne Befund.

4) Fall See.: Serum ikterisch. Beginn 7. IX. 1915. Schwerer Fall. Fieberfrei seit 18. IX. 1915.

Meerschw. 459: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund geblieben.

5) Fall Hes. (s. p. 372): Serum ikterisch. Beginn am 22. VIII. nachmittags mit Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Schmerzen in Waden, Oberschenkeln und Kopfnicker. Am 25. VIII. trat Ikterus auf. Im Urin Eiweiß.

Meerschw. 461: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund geblieben.

6) Fall Nieh.: Schwerer Fall, krank seit 13. IX. Serum ikterisch.

17. IX. Vor 4 Tagen plötzlich gelb geworden. Dabei Schwächegefühl. Schmerzen in der Oberbauchgegend. Starker Ikterus der Haut und Skleren. Temperatur 38°. Braunroter Urin, kein Eiweiß. Diagnose: Gelbsucht (katarrhalisch).

20. IX. 37,6°, Schmerzen in Kniegelenken. Urin: Albumen +. Verlegt nach Si.

24. IX. Tiefe Gelbfärbung der Körperhaut. Rötlicher Ausschlag. Leber vergrößert.

25. IX. Petechien und Oedem der Hände und Augenlider. Ausschlag weniger gerötet.

1. X. Ikterus im Zurückgehen. Fieberfrei.

4. X. Temperatursteigerung. Kopfschmerzen.

6. X. Ikterus geht zurück. Kein Eiweiß.

10. X. Mattigkeit. Milzdämpfung groß.

20. X. Zahlreiche kleine Flecken auf der Haut. Juckreiz, Schuppung.

26. X. abends fieberfrei. Allmähliche Rekonvaleszenz.

Meerschw. 462: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund geblieben.

7) Fall Hein. (s. p. 372): Serum ikterisch.

Meerschw. 463: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 23. XII. gesund geblieben.

8) Fall Gr. (s. p. 362, 372): Serum ikterisch. Beginn am 7. VIII. morgens mit Schüttelfrost, Schweißausbruch, Ohnmacht, Erbrechen, Schwindel, starken Kopf- und Leibschmerzen. Schmerzhaftigkeit der Oberschenkel-, Waden- und Rückenmuskulatur. In den nächsten Tagen Nasenbluten. Ikterus seit 10. VIII.

Meerschw. 468: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 23. XII. gesund geblieben.

9) Fall Dick. (s. p. 372): Serum ikterisch.

Meerschw. 469: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
24. XI. † Pneumonie, nicht gelb. Spir. 0.

10) Fall Kim. (s. p. 372): Serum ikterisch.

Meerschw. 470: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
20. XI. †, nicht gelb, Pneumonie. Spir. 0.

11) Fall Fre. (s. p. 372): Serum stark ikterisch.

Meerschw. 471: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
23. XII. gesund geblieben.

12) Fall Eb. (s. p. 370, 372, 384, 459, 464): Serum ikterisch + Blutkörperchen.

Meerschw. 473: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
23. XII. gesund geblieben.

13) Fall Schm. (s. p. 372): Serum ikterisch.

Meerschw. 475: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
23. XII. †, o. B., nicht gelb.

14) Fall Müll.: mittelschwer, krank seit 25. IX. (s. unter „negative Fälle“ p. 463).

Meerschw. 476: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
26. XI. †, o. B.

15) Fall Lö. (s. p. 372, 374, 456): Serum ikterisch. Beginn 7. X. Leichter Verlauf.

Meerschw. 481: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. +.

16) Fall We. (s. p. 372): Serum ikterisch.

Meerschw. 482: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p.,
gesund geblieben.

Kontrollen:

Meerschw. 474: 1,0 ccm Normalserum (Fr.) + 1,0 ccm Leberemulsion
i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 472: 1,0 ccm Normalserum (Fi.) + 1,0 ccm Leberemulsion
i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 460: 1,0 ccm NaCl + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XI.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Zur Kontrolle wurden Serumproben klinisch
sicher nicht Weilkranker bzw. Rekonvaleszenten
untersucht:

a) Serum von Leuten, die an einer anderen Krankheit,
z. B. Typhus, gelitten haben,

b) die gesund sind (s. „Kontrollen“ der Versuche).

a) Schützt Typhusrekonvaleszenten-Serum?

10. XII.

I. Fall Sie. (5. fieberfreier Tag).

Meersch. 726: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut (1 Std.!) i.p.
16. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 727: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut (1 Std.!) i.p.
15. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

II. Fall de Bu. (17. fieberfreier Tag).

Meersch. 728: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 15. XII.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

Meersch. 729: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 17. XII.
gelb. † Befund typisch. Spir.: schlechtes Präparat.

III. Fall Schrö. (14. fieberfreier Tag).

Meersch. 730: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 19. XII.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 731: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 16. XII.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

IV. Fall Rass. (36. fieberfreier Tag).

Meersch. 732: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 17. XII.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 733: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 17. XII.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

b) Kontrollen (Normalserum R.).

Meersch. 734: 1,0 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
18. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 735: 0,1 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
18. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Im Typhusrekonvaleszenten-Serum sind also keine Schutzstoffe gegen das Virus der Weilschen Krankheit nachweisbar¹⁾.

Auch zahlreiche andere Sera vollständig gesunder Personen haben keine Schutzkörper (s. die zahlreichen Kontrollen mit Normalserum).

Nachdem somit in mehr orientierenden Versuchen der Nachweis von Antikörpern im Rekonvaleszentenserum erbracht

1) Da bei Typhus bisweilen Ikterus beobachtet wird, ist diese Tatsache für eine nachträgliche Differentialdiagnose von Bedeutung.

war, gingen wir dazu über, den **Gehalt an Schutzstoffen** quantitativ auszuwerten.

Quantitative Rekonvaleszentenserum-Versuche.

1) 23. X. 1915. Rekonvaleszentenserum Hei. (s. oben I. Versuch), erkrankt 5. IX., inaktiviert. Mischung steht 2 Stunden. Gewicht der Tiere ca. 400 g. Alle Röhrchen auf 4,1 mit NaCl aufgefüllt.

Meerschw. 159: 2,7 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 2. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 8. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 158: 2,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 2. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 157: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 2. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 3. XII. † o. B. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 156: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 2. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 6. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 155: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 2. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 6. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 154: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 2. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p., gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + vereinzelt.

Kontrollen:

Meerschw. 160: 3,1 ccm Normalserum (Fr.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 28. X. gelb. 31. X. † Befund typisch. Präparat nicht untersucht.

Meerschw. 161: 1,0 ccm Virusblut. 28. X. gelb. 29. X. † Befund typisch. Präparat nicht untersucht.

2) Rekonvaleszentenserum Ing. (s. p. 356): Beginn am 16. VII. 1915 mit Schwindel, Ohnmacht, Gliederschmerzen, starken Kopfschmerzen, später Husten, Erbrechen. Bei Lazarettaufnahme am 20. VII. leicht ikterisch, Conjunctivitis, Druckempfindlichkeit der Leber. 24. VII. Ikterus stark, auf der Brust Petechien. 3. VIII. Ikterus fast geschwunden.

Mittelschwerer Verlauf, geht langsam in Heilung über. Subfebrile Temperaturen bis zur Entlassung in die Genesungsabteilung. (Vor dem 23. VII. im Blut Typhusbacillen.) Blut vom 17. VII. steril, Widal $\frac{1}{100}$ (Widal Ende August $\frac{1}{100}$). Serum und Virus werden getrennt gleichzeitig eingespritzt. Serum inaktiviert. 29. X. 1915.

1) Meerschw. 220: 3,0 ccm Rek.-Serum s.k. + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. ? 18. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

2) Meerschw. 221: 2,0 ccm Rek.-Serum s.k. + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 19. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

3) Meerschw. 222: 1,0 ccm Rek.-Serum i.p. + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 20. XII. gelb?

Gemischt. Die Mischung bleibt 30 Minuten stehen.

4) Meerschw. 223: 3,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 17. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen:

5) Meerschw. 219: 2,0 ccm Normalserum s.k. + 1,0 ccm Virusblut i.p. 5. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

6) Meerschw. 218: 1,0 ccm Virusblut i.p. 3. XI. gelb. 5. XI. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

3) 4. XI. 1915. Sera von Wil., Döt., Schik. (s. p. 362), Wack. (s. p. 362) gemischt und durch Berkefeldfilter filtriert (s. oben p. 362). Mischung bleibt 1 Stunde stehen.

Meerschw. 270: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 16. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

Meerschw. 269: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 268: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 16. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 267: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p.

Meerschw. 266: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 13. XI. gelb. 14. XI. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Die gleiche Mischung bleibt 2 Stunden stehen.

Meerschw. 281: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Die gleiche Mischung bleibt 4 Stunden stehen.

Meerschw. 282: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 14. XII. gelb. 15. XII. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

6. XI. 1915. Titration von Rekonvaleszenten-sera. Sera inaktiviert. Mischung von Rekonvaleszentenserum und Virusblut bleibt 2 Stunden stehen.

4) Hei. (s. oben).

Meerschw. 311: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 312: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 313: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 314: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 20. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 315: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

5) Hin. (s. p. 370): Beginn der Krankheit 24. IX., seit 15. X. nicht mehr gelb.

Meerschw. 316: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 317: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 318: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 319: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 18. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 320: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

6) Eb.

Meerschw. 321: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.

† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 322: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.

† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 323: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.

† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 324: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 21. XI.

†, nicht gelb. Pneumonie, sonst o. B. Spir. (Leber) 0. (Seuche.)

Meerschw. 325: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.

15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

7) Nag. (s. p. 383).

Meerschw. 326: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.

† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 327: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 19. XI.

† Pneumonie, sonst o. B. Kein Ikterus. Spir. (Leber) 0. (Seuche.)

Meerschw. 328: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p.

Meerschw. 329: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 16. XI.

gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 330: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.

14. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Kontrolle:

Meerschw. 336: 1,0 ccm Virusblut (ohne Normalserum). 12. XI. gelb.

† Befund typisch. Präparat nicht untersucht.

8) Rekonvaleszenten-Mischserum von Hei., Hin.
(s. p. 369), Eb., Nag. (filtriert ohne Karbol). Mischung bleibt
2 Stunden stehen. 6. XI. 1915.

Meerschw. 331: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.

† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 332: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.

† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 333: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 9. XI.

† Befund negativ.

Meerschw. 334: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. 0.

Meerschw. 335: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.

15. XI. gelb. † Befund typisch. Präparat nicht gemacht.

Kontrollen:

Meersch. 336: 1,0 ccm Virusblut i.p. 12. XI. gelb. † Befund typisch. Präparat nicht gemacht.

Meersch. 309: 2,0 ccm Normal-Menschenserum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 310: 1,0 ccm Normal-Menschenserum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Das Normalserum hat in diesem Falle geschützt. Es bestand aus einer Mischung von Sera, die zur Widalschen Reaktion eingesandt waren. Möglicherweise befand sich darunter ein Serum eines klinisch nicht erkannten Weil-Rekonvaleszenten.

Rekonvaleszentenserum, nicht inaktiviert. Mischung bleibt 1 Stunde stehen.

9) 10. XI. 1915. See.

Meersch. 437: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 18. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 24. XII. †, gelb. Befund typisch.

Meersch. 438: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 18. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 25. XII. †, gelb. Befund typisch.

Meersch. 439: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 22. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 440: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Nachgeimpft 18. XII., typisch erkrankt.

Kontrollen:

Meersch. 441: 1,0 ccm Normalserum (Typhus, Widal 1:200 +) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 20. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ?

Meersch. 442: 0,5 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 18. XI. gelb? 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 443: 0,1 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 444: 0,01 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 18. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 445: 0,001 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 18. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 446: 1,0 ccm Virusblut i.p. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

10) Mischserum von We. (s. p. 365), Lð. (s. p. 365), Mül., Schm., Eb., Fre., Kim. (s. p. 365), Dick. (s. p. 365), Gr. (s. p. 362, 364), Hein. (s. p. 364), Nie., Hes., See., Lor. (s. p. 363), Stru., Schä. (s. p. 374). Vorstehende Einzelsera gemischt, nicht inaktiviert, ohne Karbol, unfiltriert. Mischung steht 1 Stunde. 11. XI. 1915.

Meerschw. 477: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 21. XII. gesund. Nachgeimpft: typisch erkrankt.

Meerschw. 478: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 21. XII. gesund. Nachgeimpft: typisch erkrankt.

Meerschw. 479: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 23. XI. †, nicht gelb, Pneumonie. Befund: Leber, Lunge, Niere? Spir. (Leber) +.

Meerschw. 480: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 20. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

11) 11. XI. 1915. Fra.: Serum stark ikterisch (s. positive Fälle), krank seit 5. X. Mischung bleibt 1 Stunde stehen.

Meerschw. 464: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 21. XII. gesund. Nachgeimpft: typisch erkrankt.

Meerschw. 465: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 20. XI. †, nicht gelb, o. B. (Seuche). Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 466: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 21. XII. gesund. Nachgeimpft: typisch erkrankt.

Meerschw. 467: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 21. XI. †, nicht gelb. Sektion: Lunge +, sonst 0. Kein Ikterus. Spir. (Leber) +.

Kontrollen zu Versuchen vom 11. XI.:

Meerschw. 452: 1,0 ccm Normalserum (Mäch.) + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 453: 0,1 ccm Normalserum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 16. XI. †, nicht gelb, aber typischer Befund. Spir. +.

Meerschw. 454: 0,01 ccm Normalserum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 455: 0,001 ccm Normalserum + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 460: 1,0 ccm NaCl + 1,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

12) 3. XII. Rekonvaleszenzserum Fre. Mischung steht 1 Stunde.

26. IX. In letzter Nacht Halsschmerzen und Durchfall.

27. IX. Gelbe Verfärbung der Haut. Schmerzen in der Gallenblasengegend, Leber vergrößert fühlbar. Nasenbluten.

3. X. Allgemeinbefinden gut.

7. X. Haut gelb verfärbt, Gallenblase nicht vergrößert, wenig druckempfindlich. Stuhl normal.

10. X. Noch deutliche Gelbfärbung der Haut und Skleren. Im Urin kein Eiweiß, Gallenfarbstoff +.

19. X. Temperatursteigerung. Kopfschmerzen, Ikterus blaßt ab.

30. X. Ikterus abgeblaßt. Geringer Druckschmerz in der Lebergegend.

9. XI. Vorübergehend Pulsbeschleunigung. Urin: kein Eiweiß.

8. XII. Kopfschmerzen. Kein Eiweiß.

9. XII. Ins Genesungsheim entlassen.

Meersch. 581: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Meersch. 582: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Kontrollen:

Meersch. 583: 1,0 ccm Normalserum (U.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 584: 0,1 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Rekonvaleszentenserum-Titration. 6. XII. 1915.

13) Hei. (seit 16 Wochen Rekonvaleszent). Mischung steht 1 Stunde (s. oben p. 360).

Meersch. 607: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund geblieben.

Meersch. 608: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund geblieben.

Meersch. 687: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, typisch erkrankt, †; s. u. 9. XII.

14) Nieh. (o. schon einmal), seit 5 Wochen Rekonvaleszent. Mischung steht 1 Stunde.

Meersch. 609: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund geblieben.

Meersch. 610: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund geblieben.

15) Schnei., seit 6 Wochen Rekonvaleszent; mittelschwerer Fall. Mischung steht 1 Stunde.

Meersch. 611: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 22. XII. †, gelb. Befund typisch.

Meersch. 612: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 16. XII. †, gelb. Befund typisch.

16) Thie. (s. p. 446, 479), seit 2 Wochen Rekonvaleszent; mittelschwerer Fall. Mischung steht 1 Stunde.

Meerschw. 613: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund geblieben.

Meerschw. 614: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 16. XII. †, gelb. Befund typisch.

17) Lö. (s. p. 365, 372), seit 4 Wochen Rekonvaleszent; leichter Fall. Mischung steht 1 Stunde.

Meerschw. 615: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch.

Meerschw. 616: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch.

18) Schä. (s. p. 372, 456). Mischung steht 1 Stunde.

Meerschw. 617: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 618: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

19) Ber. Mischung steht 1 Stunde.

Aufgenommen am 20. IX. 1915 in B. Am 18. IX. Kopf-, Leibschmerzen, Erbrechen, Nasenbluten, Durchfall, Mattigkeit. Leib druckempfindlich. Milz o. B. Stuhl gelb, dünnflüssig.

22. IX. Beginnende Gelbfärbung der Skleren und des Gesichts. Urin dunkelgelb. Gallenfarbstoff +, Eiweiß: Spuren. Diffuse Rötung am Rumpf. Temp. 39,2°.

23. IX. Hohe Temperatur. Starke Leibschmerzen. Stuhl dünnflüssig. Urin: Eiweiß +. Gelbfärbung nimmt zu.

24. IX. Schmerzhaftigkeit in der Gegend der Gallenblase. Lebertrand fühlbar.

9. X. Ikterus noch gering. Ausschlag verschwunden. Seit 3 Wochen fieberfrei. Kein Eiweiß, kein Durchfall. Abschuppung der Haut (für Weil charakteristisch!).

30. X. Gallenfarbstoff —, Eiweiß +.

2. XI. Kein Eiweiß.

28. XI. Allmähliches Wohlbefinden. Rekonvaleszenz.

Meerschw. 619: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 620: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 27. XII. Abszeß am Fuß, †.

Kontrollen:

Meerschw. 623: 1,0 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 624: 0,1 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut.
11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

20) 9. XII. Niet. (s. p. 464). Mischung steht 1 Stunde.

Am 4. XI. plötzlich erkrankt mit Schwindel, Frösteln, Mattigkeit, Schlingbeschwerden.

6. XI. Lazarettaufnahme. Besondere Druckempfindlichkeit der Waden. 10. XI. Ikterus.

12. XI. Einspritzung.

13. XI. Wesentliche Besserung.

Allmählicher Uebergang in Genesung.

Meerschw. 684: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 685: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund geblieben (Augenentzündung — Ulcus?).

Meerschw. 686: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut, gesund geblieben. Augenentzündung.

21) Hei. (s. oben). Mischung steht 1 Stunde.

Meerschw. 687: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 19. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

22) Uhl. (s. zweifelhafte Fälle). Mischung steht 1 Stunde.

Meerschw. 688: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 15. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 689: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 14. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

23) Mül. (s. p. 361, 372). Mischung steht 1 Stunde.

Meerschw. 690: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben (Augenentzündung).

Meerschw. 691: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 23. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

24) Kre. (s. p. 452, 465). Mischung steht 1 Stunde.

Meerschw. 692: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 30. XII. †, Keratitis.

Meerschw. 693: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 23. XII. †, nicht gelb. Augen! Spir. (Leber) 0.

Kontrollen:

Meerschw. 694: 1,0 ccm Normalserum (U.) + 1,0 ccm Virusblut. 17. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 695: 0,1 ccm Normalserum (U.) + 1,0 ccm Virusblut. 14. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Vorstehende Versuche zeigen, daß im Serum von Weil-Rekonvaleszenten hochwertige Schutzstoffe vorhanden sind. Es schützt in vielen Fällen schon 0,01 ccm gegen 1,0 ccm Virusblut.

Normales Serum und Serum von anderen Kranken weist keine Schutzkörper auf.

Die Schutzkörper bilden sich während der Erkrankung, wie wir in den folgenden Versuchen feststellen konnten. Man ist daher in der Lage, aus dem Nachweis spezifischer Schutzstoffe bei klinisch zweifelhaften Fällen die nachträgliche Diagnose zu stellen. Das beweisen folgende Protokolle von 2 Fällen, die wir in unserem Laboratorium zu beobachten Gelegenheit hatten.

Fall Br. (Laboratoriumsinfektion, s. p. 450, 473).

I. Serumtitration vor der Erkrankung.

Serum Bräu. wurde vor seiner Erkrankung als Kontrollserum benutzt. Mischung steht 1 Stunde.

10. X. 1915. 3,0 ccm Serum Bräu. + 1,0 ccm Virusblut ($\frac{1}{2}$ Stunde).

17. X. gelb. † Befund typisch.

Erkrankung: Beginn 9. XI.¹⁾ (Krankengeschichte siehe unter positive Fälle.) Meerschweinchenimpfung positiv.

II. Serumtitration nach der Erkrankung.

Mischung steht 1 Stunde.

I. Am 20. XII. 1915.

20. XII. 1915. Meerschw. 836: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund. 31. I. 1916 nachgeimpft, typisch erkrankt.

Meerschw. 837: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund. 31. I. 1916 nachgeimpft, typisch erkrankt.

Meerschw. 838: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund. 31. I. 1916 nachgeimpft, typisch erkrankt.

Meerschw. 839: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 29. XII. gelb. † Befund typisch.

Kontrollen.

Meerschw. 843: 1,0 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 28. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 844: 0,5 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 28. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

1) Näheres s. Arbeit von Goebel, Med. Klinik, 1916, No. 15.

II. Am 3. VI. 1916.

3. VI. 1916. 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 30. VII. 1916 nachgeimpft, typisch erkrankt.

0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 26. VI. gelb? Vorübergehend leicht krank. 30. VI. gesund. 5. VII. gesund. 31. VII. dauernd gesund. 6. VIII. 1916 nachgeimpft, typisch erkrankt.

Kontrolle.

1,0 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 10. VI. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Fall M. (Laboratoriumsinfektion, s. p. 451, 474).

I. Vor der Erkrankung.

Serum M. wurde vor seiner Erkrankung als Kontrollserum benutzt.

11. XI. Meersch. 452: 1,0 ccm Serum M. + 1,0 ccm Virusblut. 19. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 453: 0,1 ccm Serum M. + 1,0 ccm Virusblut. 16. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 454: 0,01 ccm Serum M. + 1,0 ccm Virusblut. 16. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 455: 0,001 ccm Serum M. + 1,0 ccm Virusblut. 16. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

II. Erkrankung: Beginn 28. XI. 1915.

7. XII. 1) Nach Abfall des Fiebers Meerschweinchenimpfung positiv. Ist noch nicht gesund, bekommt am 18. XII. eine Iritis. Dasselbe Blut wird eingespritzt, um festzustellen, ob noch infektiös (siehe positive Fälle).

Meersch. 657: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 31. I. 1916 nachgeimpft, typisch erkrankt.

Meersch. 658: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 22. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen.

Meersch. 659: 1,0 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 13. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 660: 0,1 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 14. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

2) Nach der Erkrankung.

I. Am 7. I. 1916.

7. I. 1916. Meersch. 69: 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 31. III. 1916 nachgeimpft. 6. IV. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 68: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 31. III. nachgeimpft. 6. IV. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 88: 0,01 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 20. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 74: 0,001 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 15. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen.

Meerschw. 100: 1,0 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut. 14. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 90: 0,5 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut. 14. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

II. Am 3. VI. 1916.

3. VI. 1916. 0,5 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut (1 Stunde) i.p., gesund geblieben. 30. VII. nachgeimpft, typisch erkrankt.

0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 30. VII. nachgeimpft, typisch erkrankt.

Kontrolle.

1,0 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 10. VI. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Das Serum der beiden oben beschriebenen Fälle, das vor der Erkrankung keine Schutzstoffe aufwies, schützt nach der Erkrankung in hohem Maße, und zwar noch nach 7 Monaten. Es wird an diesen Fällen weiterhin untersucht werden, wie lange sich die Antikörper im Serum werden nachweisen lassen¹⁾.

Da diese Fälle nicht den für Weil typischen Symptomenkomplex zeigten — vor allem keinen Ikterus hatten — konnte aus dem Nachweis der Antikörper die Diagnose gesichert werden (s. auch direkter positiver Impfversuch p. 330—332).

Nach Feststellung dieser wichtigen Tatsache wurden uns mehrfach Sera von klinisch zweifelhaften Fällen zur Prüfung auf Antikörper zugeschickt.

I. Fall Ha. Hat Nephritis gehabt. Frage, ob nach Weil?

2. XII. Meerschw. 559: 1,0 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. (1 Stunde). 7. XII. gelb? 8. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 560: 0,1 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. (1 Stunde). 6. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

1) Die Sera wurden am 5. X. 1916 wiederum geprüft. Das Serum Br. schützte in einer Menge von 0,5 und 0,1 ccm, nicht bei 0,01 ccm. Das Serum M. schützte in einer Menge von 0,5 ccm, nicht mehr in einer Menge von 0,1 und 0,01 ccm.

II. Fall Frö. Hat Nephritis gehabt; ob nach Weil?

Meerschw. 561: 1,0 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 562: 0,1 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 6. XII. gelb? 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Fall I und II haben nach dem Ausfall unserer Serumprüfung nicht an Weilscher Krankheit gelitten.

III. Fall Po. Mit Typhusverdacht eingeliefert, seit längerer Zeit fieberfrei. Frage, ob Weil gehabt.

2. XII. 1915. Meerschw. 563: 1,0 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. ? 8. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 564: 0,1 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Nachträgliche Angabe: Hat keine Weilsche Krankheit gehabt.

Kontrollen.

I. Meerschw. 567: 1,0 ccm Normalserum (U.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 568: 0,1 ccm Normalserum (U.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

II. Meerschw. 565: 1,0 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 6. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

Meerschw. 566: 0,1 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

IV. Fall Ern. (siehe negative Fälle p. 469). Diagnose: Icterus catarrhalis. Kein Fieber. Weil?

5. XII. Meerschw. 597: 1,0 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut (1 Std.) i.p. 27. XII. gesund geblieben.

Meerschw. 598: 0,1 ccm Serum + 1,0 ccm Virusblut (1 Std.) i.p. 16. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Es ist anzunehmen, daß hier Weilsche Krankheit vorgelegen hat.

V. Fall Spar. Aufgenommen 11. XI. 1915. Icterus catarrhalis oder Weil?

Am 26. X. Leibschmerzen, Durchfall, kein Fieber.

29. X. Gelbsucht mäßigen Grades, Schluckschmerzen, keine Wadenschmerzen.

12. XI. Körper gleichmäßig leicht gelb, Skleren zeigen tiefere Färbung. Leber normal. Stuhlgang dünnflüssig. Mattigkeit, Schwäche. Urin: Gallenfarbstoff in Spuren.

16. XI. Besserung. Stuhl geformt, keine Waden- oder Gliederschmerzen.

19. XI. Hautjucken. 22. XI. Durchfall läßt nach. Ikterus noch angedeutet.

24. XI. Keine Beschwerden, Urin ohne Eiweiß.

6. XII. 1915. Meerschw. 621: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 11. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 622: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut. 12. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrollen.

Meerschw. 623: 1,0 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut. 12. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 624: 0,1 ccm Normalserum (R.) + 1,0 ccm Virusblut. 11. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Es hat sich hier unserer Ansicht nach nicht um Weilsche Krankheit gehandelt.

VI. Fall Dorn. (siehe negative Fälle p. 469). Frage: Icterus catarrhalis oder Weil?

14. XII. Meerschw. 783: 1,0 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut (1 Stunde) i.p. 20. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 782: 0,1 ccm Rek.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 20. XII. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Es hat danach Weilsche Krankheit wohl nicht vorgelegen.

Serumtherapie.

Nachdem wir im Serum der Rekonvaleszenten hochwertige Schutzstoffe nachgewiesen hatten, gingen wir dazu über, diese **therapeutisch** zu verwerten, indem wir versuchten, den Krankheitsverlauf zunächst bei Meerschweinchen durch Einverleibung des Serums zu beeinflussen.

Ueber diese Versuche geben die folgenden Protokolle näheren Aufschluß.

Schutz-Heilversuch I

mit Rekonvaleszentenserum Hei., s. o. (9. IX. erkrankt).

26. X. 1915. Es werden Meerschweinchen mit Leberbrei von kranken Tieren um 4 Uhr i.p. infiziert. Um 5,15 Uhr setzt die Behandlung ein. (Serum nicht inaktiviert.)

Meerschw. 178: 3,0 ccm Rek.-Serum (Hei.) i.m. 17. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 179: 3,0 ccm Rek.-Serum i.m. 22. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrolle:

Meerschw. 177: 4,0 ccm Normalserum i.m. 31. X. gelb. 1. XI. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Während mit das Normalserum behandelte Meerschweinchen 5 Tage nach der Infektion prompt erkrankte und am 6. Tage einging, erkrankten die mit Rekonvaleszenten-serum behandelten Tiere erst 22 resp. 27 Tage nach der Infektion. Das Serum hat also eine erhebliche Schutzwirkung entfaltet.

Schutz-Heilversuch II

mit Rekonvaleszenten-serum (Mischserum Wil. (s. p. 362, 368, 383), Döt., Schi., Wa. (s. p. 383), mit Berücksichtigung etwaiger Karbolschädigung).

4. XI. 1915. Meerschweinchen werden um 3¹⁵ Uhr mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. infiziert. Nach bestimmten Zeiten erfolgt die Behandlung.

Um 7¹⁵ Uhr (nach 4 Stunden):

Meerschw. 271: 1,0 ccm Rek.-Serum i.p. (ohne Karbol, filtriert), gesund. Nachgeimpft 11. XII. 17. XII. typisch erkrankt, †. Spir. +.

Meerschw. 272: 1,0 ccm Rek.-Serum (mit 0,5 Proz. Karbol) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. Typisch erkrankt. Spir. +.

5. XI. 1915. 11 Uhr vormittags (nach 21 ³/₄ Stunden):

Meerschw. 287: 1,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. Typisch erkrankt, †. Spir. +.

Meerschw. 288: 1,0 ccm Rek.-Serum (mit Karbol) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. Typisch erkrankt, †. Spir. +.

7 Uhr abends (nach 27 ³/₄ Stunden):

Meerschw. 292: 1,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. Typisch erkrankt, †. Spir. +.

Meerschw. 293: 1,0 ccm Rek.-Serum (mit Karbol, filtriert) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. Typisch erkrankt, †. Spir. +.

6. XI. 1915 (nach 2 Tagen):

Meerschw. 294: 1,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. Typisch erkrankt. Spir. +.

Meerschw. 295: 2,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. Typisch erkrankt. Spir. +.

Meerschw. 296: 1,0 ccm Rek.-Serum (mit Karbol, filtriert) i.m., gesund. Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. Typisch erkrankt. Spir. +.

7. XI. 1915 (nach 3 Tagen):

Meerschw. 345: 1,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m., gesund.
Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. Typisch erkrankt.
Spir. +.

Meerschw. 346: 2,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m., gesund.
Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. Typisch erkrankt.
Spir. +.

Meerschw. 347: 1,0 ccm Rek.-Serum (mit Karbol, filtriert) i.m., gesund.
Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. Typisch erkrankt.
Spir. +.

8. XI. 1915 (nach 4 Tagen). Die Tiere sind noch nicht gelb.

Meerschw. 350: 1,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m. 9. XI.
gelb. 10. XI. † Befund typisch. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 351: 2,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert) i.m. 10. XI.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 352: 1,0 ccm Rek.-Serum (mit Karbol, filtriert) i.m. 10. XI.
schwach gelb. 11. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) 0.

9. XI. 1915 (nach 5 Tagen). Die Tiere sind schon gelb.

Meerschw. 415: 1,0 ccm Rek.-Serum (ohne Karbol, filtriert). 10. XI.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 416: 2,0 ccm Rek.-Serum (mit Karbol, filtriert). 10. XI.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) 0.

Ergebnis: Kontrollen mit Normalserum fehlen.
Immerhin sind die Tiere, mit Rekonvaleszenten-
serum eingespritzt, noch 3 Tage nach der Infek-
tion vor dem Ausbruch der Krankheit geschützt
worden.

Tiere, die schon gelb sind (4—5 Tage nach der
Infektion), können nicht mehr gerettet werden.

Schutz-Heilversuch III.

6. XII. 1915. 20 Tiere (628—647) werden infiziert (abends),
jeden Tag werden 2 Tiere mit Rekonvaleszentenserum resp.
Normalserum gespritzt (2,0 ccm i.m.).

Rekonvaleszentenserum.

Normalserum.

7. XII. abends:

Meerschw. 628: 28. XII. †, Ursache?

Meerschw. 630: 11. XII. gelb. † Be-
fund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 629: 6. I. †, Ursache?

Meerschw. 631: 12. XII. gelb. † Be-
fund typisch. Spir. (Leber) +.

Rekonvaleszentenserum.	Normalserum.
8. XII.:	
Meerschw. 632: gesund geblieben.	Meerschw. 634: 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
Meerschw. 633: gesund geblieben.	Meerschw. 635: 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + + +.
9. XII.:	
Meerschw. 636: gesund geblieben.	Meerschw. 638: 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
Meerschw. 637: 29. XII. †, nicht gelb.	Meerschw. 639: 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
10. XII.:	
Meerschw. 640: 12. XII. gelb. 13. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. 0.	Meerschw. 642: 13. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
Meerschw. 641: 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. 0.	Meerschw. 643: 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
11. XII.:	
Meerschw. 644: 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. spärlich!	Meerschw. 646: 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + + +.
Meerschw. 645: unbehandelt gestorben. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + +.	Meerschw. 647: 13. XII. gelb. 14. XII. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Schutz-Heilversuch IV.

26. X. Serum Hei.

1 $\frac{1}{4}$ Stunde nach Infektion mit Leberbrei:

3,0 ccm Serum i.m. Gelb 17. XI. Dauer 22 Tage.

3,5 „ Serum i.m. Gelb 22. XI. Dauer 27 Tage.

Kontrolle: 4,0 ccm Normalserum i.m. Gelb 31. X.

Schutz-Heilversuch V.

4. XI. Mischserum Wil. (s. p. 362, 368, 381), Döt., Schi., Wa. (s. p. 381).

a) 4 Stunden nach Infektion (mit Leberbrei):

1,0 ccm Serum i.p. }
1,0 „ Serum (+ Karbol) i.m. } Gesund geblieben.

b) 21 $\frac{3}{4}$ Stunden nach Infektion:

1,0 ccm Serum i.m. }
1,0 „ Serum (+ Karbol) i.m. } Gesund geblieben.

c) 27 $\frac{3}{4}$ Stunden nach Infektion:

1,0 ccm Serum i.m. }
1,0 „ Serum (+ Karbol) i.m. } Gesund geblieben.

d) 2 Tage nach Infektion:

1,0 ccm Serum i.m. }
2,0 „ Serum i.m. } Gesund geblieben.
1,0 „ Serum (+ Karbol) i.m. }

e) 3 Tage nach Infektion:

1,0 ccm Serum	i.m.	} Gesund geblieben ¹⁾ .
2,0 „ Serum	i.m.	
1,0 „ Serum (+ Karbol)	i.m.	

f) 4 Tage nach Infektion:

1,0 ccm Serum	i.m.	10. XI. †, typisch.	Spir. 0?
2,0 „ Serum	i.m.	10. XI. †, typisch.	Spir. 0?
1,0 „ Serum (+ Karbol)	i.m.	10. XI. †, typisch.	Spir. 0?

g) 5 Tage nach Infektion:

1,0 ccm Serum	i.m.	10. XI. †, typisch.
2,0 „ Serum (+ Karbol)	i.m.	10. XI. †, typisch.

Ergebnis der Versuche III, IV und V: Bis 3 Tage nach der Infektion hat also die Einspritzung von Rekonvaleszentenserum noch eine deutliche Heil-Schutzwirkung gezeigt.

Es wurde dann in weiteren Versuchen Rekonvaleszentenserum Meerschweinchen eingespritzt, und nach bestimmten Zeiten erfolgte die Infektion.

Wie lange schützt Rekonvaleszentenserum?

7. XI. Rekonvaleszentenserum gemischt von Hei., Hi., Eb., Nag. (s. p. 370) (filtriert, ohne Karbol).

I. Versuch.

Am 7. XI. 5 Meerschweinchen mit je 2,0 ccm Rek.-Serum i.m. eingespritzt (Rek.-Tiere). Ebenso 5 Meerschweinchen mit je 2,0 ccm Normalserum i.m. (Normaltiere).

Rek.-Tiere	Normaltiere	Kontrollen (unbehandelt)
8. XI.		
Ms. 378: 2,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 31. XII. nachgeimpft, typisch erkrankt, †. Spir. (Leber) +.	Ms. 379: 2,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.	Ms. 380: 2,0 ccm Virusblut i.p. 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leb.) + + + +.
10. XI.		
Ms. 435: 2,0 ccm Leberbrei i.p., gesund geblieben. 31. XII. nachgeimpft, typisch erkrankt, †. Spir. (Leber) +.	Ms. 423: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 16. XI. krank, nicht gelb. 17. XI. krank. 18. XI. † Befund typisch (nicht gelb.) Spir. (Leber) +.	Ms. 436: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 14. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

1) Die gesund gebliebenen Tiere dieser Versuche III und V sind bei späterer Nachimpfung typisch erkrankt (also es war auch keine aktive Immunisierung eingetreten, s. unten).

Rek.-Tiere	Normaltiere	Kontrollen (unbehandelt)
13. XI.		
Ms. 428: 2,0 ccm Leberbrei i.p., gesund geblieben. 31. XII. nachgeimpft, typisch erkrankt, †. Spir. (Leber) +.	—	Ms. 495: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 17. XI. † gelb? Spir. (Leber) +.

Normalserum hat bei Meerschweinchen 379 geschützt. Ursache nicht festzustellen!

Rek.-Serum	Normalserum	Kontrollen
18. XI.		
Ms. 431: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.	Ms. 424: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 22. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Ms. 492: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 22. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
24. XI.		
Ms. 433: 2,0 ccm (Leberbrei + Blut 431 + 364) i.p. 29. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Ms. 426: 2,0 ccm Leberbrei. 29. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Ms. 88: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 29. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
29. XI.		
Ms. 434: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 6. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Ms. 425: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 4. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	

Ergebnis: In diesem Versuch hat das Rekonvaleszenten-Serum 6 Tage gegen eine Infektion mit 2,0 ccm Leberbrei geschützt.

II. Versuch.

10. XII. 10 Meerschweinchen werden mit 2,0 ccm Rek.-Serum gespritzt, 706—715.

10 Meerschweinchen werden mit 2,0 ccm Normalserum gespritzt, 716—725.

Rek.-Serum-Tiere	Normalserum-Tiere
13. XII.	
Meerschw. 706: 2,0 ccm Leberbrei i.p., gesund geblieben (4. II.)	Meerschw. 716: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 19. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.
15. XII.	
Meerschw. 707: 2,0 ccm Leberbrei i.p., gesund geblieben (4. II.)	Meerschw. 717: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 19. XII. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Rek.-Serum-Tiere**16. XII.**

Meerschw. 708: 2,0 ccm Leberbrei von 587 i.p., gesund geblieben (4. II.)

17. XII.

Meerschw. 709: 2,0 ccm Leberbrei von 326 i.p. 23. XII. †, nicht gelb. Kein Befund für Weil.

19. XII.

Meerschw. 710: 2,0 ccm Leberbrei von 730 i.p. 31. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

21. XII.

Meerschw. 711: 2,0 ccm Leberbrei von 118 i.p. 28. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

22. XII.

Meerschw. 712: 2,0 ccm Leberbrei von 812/781. 30. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

23. XII.

Meerschw. 713: 2,0 ccm Leberbrei von 816. 28. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

24. XII.

Meerschw. 714: 2,0 ccm Leberbrei von 805. 1. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

26. XII.

Meerschw. 715: 2,0 ccm Leberbrei von 846/47. 30. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen, ohne Serum:

Meerschw. 818: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 23. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 848: 2,0 ccm Leberbrei von 118. 28. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 870: 2,0 ccm Leberbrei von 816. 28. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 905: 2,0 ccm Leberbrei von 846/42. 31. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Normalserum-Tiere

Meerschw. 718: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 22. XII. gelb. † Befund typisch.

Meerschw. 719: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 18. XII. 24. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 720: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 24. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 721: 2,0 ccm Leberbrei von 118. 29. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 722: 2,0 ccm Leberbrei von 812/784. 26. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 723: 2,0 ccm Leberbrei von 816. 24. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 724: 2,0 ccm Leberbrei von 805. 31. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 725: 2,0 ccm Leberbrei von 846/47. 31. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 829: 2,0 ccm Leberbrei i.p. 23. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 861: 2,0 ccm Leberbrei von 812/784. 25. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 889: 2,0 ccm Leberbrei von 805. 31. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: In diesem Versuch haben 2,0 ccm Rekonvaleszentenserum 6—7 Tage gegen eine Infektion mit 2,0 ccm Leberbrei geschützt.

Nach den bisherigen Befunden ist kein Zweifel darüber, daß das Rekonvaleszentenserum zur Behandlung kranker Meerschweinchen mit Vorteil zu verwenden ist. Damit ist eine experimentelle Grundlage geschaffen für die Behandlung der Weilschen Krankheit.

Es lag daher nahe, auch das Rekonvaleszentenserum zur Behandlung kranker Menschen zu verwenden. Das ist in umfangreicher Weise auf unsere Veranlassung geschehen.

Ob.-Stabsarzt Herbach, der die Behandlung an seinen Kranken durchgeführt hat, wird darüber in einer besonderen Arbeit berichten. Das Serum wurde durch Berkefeld-Filter steril filtriert und mit 0,5 Proz. Karbol versetzt¹⁾. Die verabreichten Dosen betrugen jeweils 10—20 ccm subkutan oder intravenös.

Die Erfolge sind, wie wir summarisch berichten können, im allgemeinen befriedigende, doch muß — wie im Tierversuch — die Behandlung frühzeitig erfolgen. Das Serum ist mehr ein Schutz- wie ein Heilserum. Auch müssen über Menge des Serums (große Dosen) und Zahl der Einspritzungen noch weitere Erfahrungen gesammelt werden. Ein endgültiges Urteil läßt sich daher noch nicht abgeben.

Die Behandlung mit Rekonvaleszentenserum kann zunächst nur als Notbehelf angesehen werden, da ja die Beschaffung solchen Serums aus äußeren Gründen auf Schwierigkeiten stoßen wird. Auch könnte man annehmen, daß die Schutzstoffe bei Menschen, die die Krankheit überstanden haben, vielleicht noch nicht optimal entwickelt sind. Wir sind daher bestrebt, hochwertiges Serum von Tieren zu gewinnen. Das Pharmazeutische Institut L. W. Gans in Oberursel befaßt sich auf unsere Veranlassung mit der Herstellung — besonders nachdem die Kultur jetzt gelungen ist — von Serum gegen die Weilsche Krankheit. Hoffentlich gelingt es nach Ueberwindung gewisser technischer Schwierig-

1) Die sterile Filtration wurde in liebenswürdiger Weise von Prof. Sachs-Frankfurt a. M. und dem Pharmazeutischen Institut L. W. Gans vorgenommen. Das Rekonvaleszentenserum ist vor der Abgabe im Tierversuch auszuwerten.

keiten, ein brauchbares Serum zu erzielen. Die Titration dieser Sera, die vor Abgabe vorgenommen werden muß, gestaltet sich im Prinzip folgendermaßen:

1) wird das Serum austitriert, d. h. um das 10-fache verdünnte Serummengen werden mit je 1 ccm Virusblut (oder auch feinst verteilter Leberaufschwemmung) zusammengemischt, bleiben 1 Stunde stehen und werden Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt. Ergebnis: Tier mit 0,0001 ccm Serum lebt, Tier mit 0,00001 ccm Serum tot, also Titer 0,0001.

2) wird das zu dieser Titration verwandte Virusblut (bzw. Leberbrei) gleichzeitig in jedesmal um das 10-fache verdünnten Mengen verschiedenen Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Ergebnis: Tier mit 0,001 ccm Blut tot, Tier mit 0,0001 ccm Blut lebt, also kleinste tötende Dosis (Dosis letalis) 0,001.

Es ist nun die Dosis letalis = 0,001 zu multiplizieren mit dem erhaltenen Serومتiter = 0,0001. Dann ergibt sich, daß 0,0000001 ccm Antiserum imstande sind, die Dosis letalis unwirksam zu machen. Das geprüfte Antiserum enthält demnach in Kubikzentimeter 10 Millionen Immuneinheiten. Wir möchten glauben, daß dieser Titer für die abzugebenden Seren in der Regel zu fordern sein dürfte.

Die in unserem Feldlaboratorium ausgeführten Versuche haben zu hochwertigen, für die Praxis brauchbaren Seris von großen Tieren (Pferden, Eseln) noch nicht geführt. Die technischen Schwierigkeiten waren im Felde zu groß. Von kleinen Tieren (Kaninchen) haben wir dagegen schon recht hochwertige Sera gewinnen können, die allerdings beim Menschen bisher noch keine Verwendung gefunden haben. Vom Hammel haben wir bisher nur schwach wirksame Sera erhalten.

Wir geben im folgenden die Protokolle wieder:

Versuche mit Eselserum.

Esel I.

- 6. XI. 1915. 60 ccm Blut i.v.
- 14. XI. Blutentnahme I.
- 16. XI. 20 ccm Blut i.v. 70 ccm Leberbrei i.p.
- 17. XI. krank.
- 21. XI. etwas besser (Peritonitis!).

25. XI. Blutentnahme II.

27. XI. † Peritonitis.

Versuch I (15. XI. 1915).

Blutentnahme I vom 14. XI. 1915.

Esel 1mal mit 60 ccm Blut am 6. XI. i.v. gespritzt, Blutentnahme I am 14. XI.

Tiere, die am 14. XI. abends mit 0,1 ccm Leberbrei i.p. infiziert wurden, erhalten Immunserum nach 24 Stunden.

Meersch. 266: 2,0 ccm Immunserum i.m. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) 0?

Meersch. 377: 1,0 ccm Immunserum i.m. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen.

Meersch. 70: 2,0 ccm Normal-Eselserum i.m. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 69: 1,0 ccm Normal-Eselserum i.m. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Tiere, am 14. XI. infiziert (1,0 ccm), werden am 16. XI. behandelt.

16. XI. 1915. Meersch. 396: 2,0 ccm Immunserum i.m. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 358: 1,0 ccm Immunserum i.m. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen, Tiere am 14. XI. infiziert.

Meersch. 391: 2,0 ccm Normal-Eselserum i.m. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 285: 1,0 ccm Normal-Eselserum. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Das Serum vom Esel hat also in vorstehendem Versuch gegen eine 24—48 Stunden vorher erfolgte Infektion nicht geschützt, wie das zu erwarten war.

Versuch II.

Blutentnahme I vom 14. XI. 1915.

Das Immunserum und Virusblut werden gemischt: Mischung bleibt 1 Stunde stehen.

20. XI. Meersch. 396: 1,0 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 29. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 320: 0,1 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI †, nicht gelb. Pneumonie (Seuche). Spir. (Leber) 0.

Meersch. 452: 0,01 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
28. XI. gelb. † Befund typisch. Präparat nicht gemacht.

Meersch. 69: 0,001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
28. XI. gelb. † Befund typisch. Präparat nicht gemacht.

Kontrollen.

Meersch. 480: 1,0 ccm Normal-Eselserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
27. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 450: 0,1 ccm Normal-Eselserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
26. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 390: 0,01 ccm Normal-Eselserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
26. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 39: 0,001 ccm Normal-Eselserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
26. XI. gelb. † Befund typisch. Kein Präparat gemacht.

Meersch. 448: 1,0 ccm physiologische NaCl + 1,0 ccm Virusblut
i.p. 24. XI. †, nicht gelb. Pneumonie (Seuche). Spir. (Leber) 0.

Ergebnis: Auch in diesem Mischungsversuch weist das Eselserum noch keine Schutzkörper auf.

Versuch III.

Blutentnahme II vom 25. XI. 1915.

27. XI. Meersch. 505: 0,1 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut (1 Stunde) i.p. 4. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 504: 0,01 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut (1 Std.)
i.p. 4. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 503: 0,001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut (1 Std.)
i.p. 3. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrolle.

Meersch. 506: 1,0 ccm Normal-Eselserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
4. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Das Serum hat noch keinen nennenswerten Schutzkörper.

Esel II.

7. XII. 1915. 30 ccm Blut i.v., fiebert.

17. XII. fieberfrei.

18. XII. 46 ccm Blut i.v.

Serum nicht geprüft.

Versuche mit Hammelserum.

Hammel I.

Vorbehandelt:

20. X. 1915. 10 ccm Mischblut i.v.

28. X. 20 ccm Mischblut i.v.

- 4. XI. Blutentnahme I.
- 7. XI. 70 ccm Leberbrei i.p.
- 14. XI. Blutentnahme II.
- 16. XI. 60 ccm Leberbrei i.p.
- 18. XI. an Peritonitis †.

**Prüfung des Serums nach Blutentnahme I
vom 4. XI. 1915.**

Serum inaktiviert. Mischung steht 1 Stunde.

4. XI. Meerschw. 279: 1,0 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.,
gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 280: 2,0 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.,
gesund.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 16. XII. gelb.
† Befund typisch.

Kontrollen:

Meerschw. 277: 2,0 ccm Normal-Hammelserum + 1,0 ccm Virus-
blut i.p. 13. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) 0?

Meerschw. 278: 3,0 ccm Normal-Hammelserum + 1,0 ccm Virus-
blut i.p. 13. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Ergebnis: Das Hammel-Immunserum zeigt
also deutliche Schutzwirkung in der Dosis von
1,0 und 2,0 ccm nach Vorbehandlung mit 10,0 und
20,0 ccm Virusblut.

**Prüfung des Serums vom 14. XI. 1915 (II. Blut-
entnahme) im Heilversuch.**

Tiere, die am 14. XI. abends mit 1,0 ccm Leberbrei i.p.
infiziert waren, erhalten:

15. XI. Meerschw. 404: 2,0 ccm Immun-Hammelserum i.m. 20. XI.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

Meerschw. 400: 1,0 ccm Immun-Hammelserum i.m. 19. XI. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 417: 0,1 ccm Immun-Hammelserum i.m. 19. XI. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrollen mit Normal-Hammelserum fehlen.

Ergebnis: Im Heilversuch am nächsten Tag
nach der Infektion zeigt sich keine Wirkung.

Hammelserum-Titration von der Blutentnahme II im Mischungsversuch.

27. XI. Meersch. 509: 0,1 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut (1 Stunde) i.p. 3. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 508: 0,01 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut (1 Stunde) i.p. 4. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 507: 0,001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut (1 Stunde) i.p. 5. XII. gelb. 6. XII. † Befund typisch.

Kontrolle:

Meersch. 510: 1,0 ccm Normal-Hammelserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 5. XII. gelb. 6. XII. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Kleine Dosen (0,1 etc.) haben auch im Mischungsversuch noch keines schützende Wirkung gezeigt.

Hammel II.

Vorbehandelt:

4. XII. 1915. 20 ccm Blut i.v.

17. XII. 26 ccm Blut i.v.

Titration vom 14. I. 1916 (Blutentnahme vom 14. I. 1916).

Meersch. 262: 0,5 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben. 12. III. †, nicht gelb.

Meersch. 260: 0,1 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 25. I. gelb. † Befund typisch.

Meersch. 273: 0,01 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 25. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 276: 0,001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 22. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrolle:

Meersch. 321: 0,5 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 21. I. gelb. † Befund typisch. Spir.? Schlechte Färbung.

Titration vom 1. IV. 1916 (Blutentnahme vom 14. I. 1916).

1. IV. Meersch. 227: 0,1 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 9. IV. †, nicht gelb, positive Lunge.

Meersch. 228: 0,01 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 7. IV. gelb. † Befund typisch.

Meersch. 229: 0,001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 6. IV. gelb. † Befund typisch.

Kontrolle:

Meersch. 233: 0,5 ccm Normalserum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 6. IV. gelb. † Befund typisch.

Ergebnis: Das Hammelserum besitzt noch keine praktisch verwertbaren Schutzkörper.

Versuche mit Kaninchenserum.

Kaninchen grau 496.

14. IX. 1915. 2,0 ccm Blut Patient Sch. (Ikterus) i.p.,
gesund geblieben (s. p. 321).
5. X. 5,0 ccm Virusblut i.v.
1. XI. 20,0 ccm Virusblut i.p.
6. XI. Blutentnahme I.
13. XI. 10,0 ccm Leberbrei i.p.
17. XI. Blutentnahme II.
5. XII. 20,0 ccm Blut i.p.
18. XII. 20,0 ccm Blut i.p.
20. XII. †.

Serumprüfung 6. XI. 1915 (Blutentnahme I).

Serum inaktiviert, Mischung mit Virusblut
bleibt 2 Stunden stehen.

Meersch. 304: 1,0 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leber i.p. 17. XII. gelb. † Be-
fund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 305: 0,5 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leber i.p. 18. XII. gelb. † Be-
fund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 306: 0,1 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leber i.p. 19. XII. gelb. † Be-
fund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 307: 0,01 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leber i.p. 17. XII. gelb. † Be-
fund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 308: 0,001 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 15. XI.
gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

Kontrollen:

Meersch. 298: 2,0 ccm Normal-Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
11. XI. gelb. † Befund typisch. Präparat nicht gemacht.

Meersch. 297: 1,0 ccm Normal-Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
11. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Das Serum des Immunkaninchens
grau hat also nach 3-maliger Vorbehandlung mit
2,0 ccm (Patientenblut), 5,0 und 20,0 ccm Virusblut
schon erhebliche Schutzstoffe. 0,01 ccm schützt
schon.

0,001 ccm Kaninchen-Immunserum verzögert den Krankheitsverlauf bis auf 9 Tage, zeigt also auch geringe Schutzkraft.

Serumprüfung vom 19. XI. (Blutentnahme II, 17. XI.).

Serum nicht inaktiviert, Mischung steht 1 Stunde.

Meersch. 417: 0,5 ccm Kan.-Serum + 0,5 ccm NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Meersch. 70: 0,1 ccm (1,0 ccm 1:10) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 19. XII. nicht gelb, †. Befund 0.

Meersch. 394: 0,01 ccm (1,0 ccm 1:100) + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Meersch. 388: 0,001 ccm (1,0 ccm 1:1000) + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.

Meersch. 493: 0,0001 ccm (1,0 ccm 1:10000) + 1,0 ccm Virusblut i.p. 22. XI. † o. B. Pneumonie!

Kontrollen:

Meersch. 319: 0,5 ccm Normal-Kan.-Serum + 0,5 ccm NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. 25. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 364: 0,2 ccm Normal-Kan.-Serum + 0,8 ccm NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 401: 1,0 ccm NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Nach weiterer Einspritzung von 10,0 ccm Leberbrei schützt schon eine Dosis von 0,001 ccm.

Kaninchen 27.

16. X. 1915. 2,0 ccm Blut von Kaninchen a (war gelb) i.v., nicht krank geworden (s. p. 326).

1. XI. 10,0 ccm Virusblut i.v.

10. XI. 10,0 ccm Leberbrei i.p.

17. XI. 20,0 ccm Leberbrei i.p.

25. XI. Blutentnahme.

11. XII. 20,0 ccm Blut i.p.

13. XII. †.

Serumprüfung vom 27. XI. 1915 (Blutentnahme vom 25. XI.).

Mischung steht über 1 Stunde.

Meersch. 522: 0,1 ccm Kan.-Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p. 21. XII. gesund.

Meersch. 521: 0,01 ccm Kan.-Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p. 8. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 520: 0,001 ccm Kan.-Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.
2. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrolle:

Meerschw. 523: 1,0 ccm Normalserum (Kaninchen) + 1,0 ccm Leberbrei i.p. 3. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: 0,1 ccm Immunserum schützt gegen 1,0 ccm Leberbrei. Bei 0,01 ccm Serum + 1,0 ccm Leberbrei ist der Krankheitsverlauf bis auf 13 Tage verzögert, also auch eine deutliche Schutzwirkung festzustellen. Es ist möglich, daß der als Antigen benutzte Leberbrei im Vergleich zu dem im vorhergehenden Versuche benutzten Virusblut eine größere Menge von Antikörpern benötigt und daher die Schutzkraft des Serums im Versuche geringer erscheint.

Kaninchen weiß.

14. IX. 1915. 2,0 ccm Blut (aufgelöst), Filtrat vom Fall Sch. (Ikterus) i.v., nicht erkrankt (s. p. 334).

1. XI. 10,0 ccm Virusblut i.v.

10. XI. 10,0 ccm Leberbrei i.p.

17. XI. 20,0 ccm Leberbrei i.p.

25. XI. Blutentnahme.

6. XII. 15,0 ccm Blut i.p.

20. XII. 15,0 ccm Blut i.p.¹⁾

Serumtitration der Blutentnahme vom 25. XI. 1915.

27. XI. Meerschw. 526: 0,1 ccm Kan.-Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p. 21. XII. gesund.

Meerschw. 525: 0,01 ccm Kan.-Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.
7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 524: 0,001 ccm Kan.-Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.
5. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: 0,1 ccm Serum schützt gegen 1,0 ccm Leberbrei. Bei 0,01 ccm ist eine geringe Verzögerung des Krankheitsverlaufes zu beobachten.

Kaninchen „Längsstrich“.

10. X. 1915. 2,0 ccm Virusblut i.v.

14. X. Ciliare Injektion.

16. und 17. X. Gelbe Sclera.

1) Nachdem das Tier noch einige Male weiter immunisiert war, bekam es 3 Junge. Das Serum der 2 Monate alten Jungen schützte in einer Dosis von 0,1 ccm — ebenso wie das Serum des Muttertieres — gegen 1,0 ccm Virusblut (6. IX. 1916).

- 20. X. Ikterus geht zurück.
- 21. X. Blutentnahme.
- 26. X. Gelbfärbung abgeblaßt.
- 1. XI. 10,0 ccm Virusblut i.p.
- 10. XI. 10,0 ccm Leberbrei i.p.
- 17. XI. 20,0 ccm Leberbrei i.p.
- 24. XI. †.

Serumprüfung (Blutentnahme vom 21. X. 1915).

Serum inaktiviert; Mischung bleibt 1 Stunde stehen!

22. X. Meersch. 138: 3,0 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 139: 1,5 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 4. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen:

Meersch. 140: 4,0 ccm Normal-Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 5. XI. krank, nicht gelb. † o. B. Spir. (Leber) 0.

Meersch. 142: 1,0 ccm Virusblut i.p. 28. X. gelb. 29. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Schoneine Einspritzung von 2,0 ccm Virusblut nach überstandenen Ikterus hat genügt, um Schutzstoffe im Serum anzureichern. 1,5 ccm schützt bereits.

Kaninchen gelb.

14. IX. 1915. 1,0 ccm Blut Sch. (Ikterus), gesund geblieben.

25. X. 5,0 ccm Virusblut i.v.

1. XI. 20,0 ccm Virusblut i.p.

6. XI. Blutentnahme I.

10. XI. 10,0 ccm Leberaufschwemmung i.p.

17. XI. Blutentnahme II.

17. XI. 20,0 ccm Leberaufschwemmung i.p.

25. XI. Blutentnahme III.

12. XII. 25,0 ccm Blut i.p.

I. Serumprüfung am 6. XI. 1915.

Serum inaktiviert, vermischt mit 1,0 ccm Virusblut, 2 Stunden Einwirkung.

- Meersch. 299: 1,0 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.
- Meersch. 300: 0,5 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 20. XII. gelb.
† Befund typisch.
- Meersch. 301: 0,1 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.
† Befund typisch. Präparat schlecht.
- Meersch. 302: 0,01 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- Meersch. 303: 0,001 ccm Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund.
Nachgeimpft 12. XII. mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 17. XII. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.
- Kontrollen:
- Meersch. 298: 2,0 ccm Normal-Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
11. XI. gelb. † Befund typisch. Präparat nicht gemacht.
- Meersch. 297: 1,0 ccm Normal-Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.
11. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

II. Serumprüfung am 19. XI. 1915.

(Blutentnahme II vom 17. XI.)

Mischung steht 1 Stunde, nicht inaktiviert.

- Meersch. 329: 0,5 ccm Immunserum + 0,5 ccm NaCl + 1,0 ccm
Virusblut i.p. 24. XI. †, nicht gelb, o. B., Pneumonie. Spir. (Leber) 0.
- Meersch. 327: 0,1 ccm Immunserum (1,0 ccm 1:10) + 1,0 ccm
Virusblut i.p. 20. XI. †, nicht gelb, o. B., Pneumonie. Spir. (Leber) 0.
- Meersch. 494: 0,01 ccm Immunserum (1,0 ccm 1:100) + 1,0 ccm
Virusblut i.p. 20. XII. gesund.
- Meersch. 389: 0,001 ccm Immunserum (1,0 ccm 1:1000) + 1,0 ccm
Virusblut i.p. 29. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.
- Meersch. 377: 0,0001 ccm Immunserum (1,0 ccm 1:10 000) + 1,0 ccm
Virusblut i.p. 26. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrollen:

- Meersch. 319: 0,5 ccm Normal-Kan.-Serum + 0,5 ccm NaCl +
1,0 ccm Virusblut i.p. 25. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
- Meersch. 364: 0,2 ccm Normal-Kan.-Serum + 0,8 ccm NaCl +
1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.
- Meersch. 401: 1,0 ccm NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Auch dieses Kaninchen-Immunserum zeigt erhebliche Schutzstoffe. Die I. Prüfung nach 3-maliger Vorbehandlung mit 1,0 ccm (Patientenblut),

5,0 und 20,0 ccm Virusblut ergibt einen Schutzwert von 0,001 (2 Stunden vermischt), die II. Prüfung nach nochmaliger Injektion von 10,0 ccm Leberbrei einen Schutzwert von 0,01 (1 Stunde vermischt).

III. Serumprüfung am 12. I. 1916.

(Blutentnahme III vom 25. XI. 1915.)

12. I. 1916. Meerschw. 390: 0,01 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 7. IV. 8. IV. †, nicht gelb.

Meerschw. 391: 0,001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.

22. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 382: 0,0001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.

18. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 398: 0,00001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Virusblut i.p.

18. I. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrolle:

Meerschw. 384: 1,0 ccm Normal-Kan.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p.

20. I. gelb. † Befund typisch. Spir.? Schlechte Färbung.

Ergebnis: Bei der III. Blutentnahme, der eine nochmalige Einspritzung von 20,0 ccm Leberbrei vorangegangen war, schützt 0,01 ccm. Das Serum war 7 Wochen aufbewahrt worden.

Versuche mit Meerschweinchenserum.

Meerschweinchen hinten rot (siehe subkutan-, i.m., i.p.-Versuch, p. 351).

13. X. 1,0 ccm Virusblut i.m.

1. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.

19. XI. 2,0 ccm Leberemulsion + Blut i.p.

27. XI. Geschlachtet zur Serumtitration.

Serumprüfung am 27. XI. 1915.

27. XI. Meerschw. 519: 0,5 ccm Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.

21. XII. gesund.

Meerschw. 518: 0,1 ccm Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.

7. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 517: 0,01 ccm Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.

4. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 516: 0,001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.

2. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 515: 0,0001 ccm Immunserum + 1,0 ccm Leberbrei i.p.

2. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrolle:

Meerschw. 514: 0,5 ccm Normal-Meerschw.-Serum + 1,0 ccm Virusblut i.p. 2. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Ergebnis: 0,5 ccm Immun-Meerschweinchenserum schützt gegen 1,0 ccm Leberbrei. 0,1 ccm Immunserum hat einen auf 10 Tage verlangsamten Krankheitsverlauf zur Folge.

Aktive Immunisierung.

Wenn man eine **künstliche aktive Immunität** bei Tieren erzielen will, muß man sich darüber klar sein, ob nach Ueberstehen einer natürlichen Infektion eine Immunität auftritt. Das ist der Fall. Mehrere Tiere, die nach einer chemotherapeutischen Behandlung eine leichte Infektion mit ikterischen Erscheinungen durchgemacht hatten (Meerschweinchen 5 und 7, siehe unten p. 400), sind bei der Nachimpfung mit hochvirulentem Material nicht erkrankt. Eine weitere Beobachtung spricht für das Zustandekommen einer aktiven Immunität. Es wurde, um die Wirkung der subkutanen und intramuskulären Einspritzung im Vergleich mit der intraperitonealen Impfung zu prüfen, folgender Versuch angesetzt:

Meerschweinchen I erhielt 1,0 ccm Virusblut intraperitoneal (Meerschweinchen Kopf rot, s. p. 351).

Meerschweinchen II erhielt 1,0 ccm Virusblut subkutan (Meerschweinchen Rücken rot, s. p. 351).

Meerschweinchen III erhielt 1,0 ccm Virusblut intramuskulär (Meerschweinchen hinten rot, s. p. 351).

Tier I erkrankte prompt 5 Tage nach der Einspritzung an ikterischen Erscheinungen und starb. Die beiden anderen Tiere zeigten vorübergehend leichte Krankheitserscheinungen, wurden aber nicht gelb. Diese Tiere wurden mehrfach mit hochvirulentem Material nachgeimpft und blieben gesund. Es besteht wohl kein Zweifel, daß in diesen Fällen eine aktive Immunisierung gelungen ist. Eine angeborene Immunität scheint recht selten zu sein. Wir haben bei unseren sehr zahlreichen Meerschweinchen nur vereinzelte gefunden, die sich auch bei mehrfacher Nachimpfung als refraktär erwiesen haben (siehe 401, 329, 393, 452, 149). Diese refraktären Tiere haben lange Zeit zusammen in einem Käfig gesessen. Nachkommen sind leider nicht erzielt worden, so daß die

Frage der Vererbbarkeit der Immunität¹⁾ an diesen Tieren nicht geprüft werden konnte. Wir geben zunächst die Protokolle der Refraktärtiere.

**Immun-Meerschweinchen.
(Refraktäre Tiere.)**

Diese Tiere waren früher bei der Impfung gesund geblieben (refraktär).

Meerschweinchen 401.

- 25. XI. 2,0 ccm Leberemulsion + Blut i.p.
- 7. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund.

Meerschweinchen 393.

- 25. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 7. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund.

Meerschweinchen 5.

(Stib. coll.-Behandlung, s. p. 426.)

- 15. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 24. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 7. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund.

Meerschweinchen 149.

- 23. X. 1,0 ccm Blut i.p.
- 19. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 6. XII. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 2,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund.

Meerschweinchen 329.

- 25. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 7. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund.

Meerschweinchen 452, klein.

- 25. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 7. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 18. XI. † Peritonitis.

Meerschweinchen 7.

(Arg. coll.-Behandlung, s. p. 431.)

- 15. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 24. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 7. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 4,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund.

Meerschw. 537 Rücken rot

(subkutan-, i.m.-Versuch, s. p. 351).

- 17. X. 1,0 ccm Virusblut subkutan.
- 1. XI. 1,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 19. XI. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 6. XII. 2,0 ccm Leberemulsion i.p.
- 17. XII. 2,0 ccm Leberemulsion i.p., gesund.

(Siehe oben auch Meerschweinchen hinten rot, p. 351).

Für das Zustandekommen einer künstlichen aktiven Immunität scheint lebendes Virus erforderlich zu sein, wenigstens haben wir feststellen können, daß abgetötetes Virus eine Immunität nicht hervorruft (s. folgende Versuche).

¹⁾ Siehe oben Vererbarkeit des Schutzstoffes bei Kaninchen (p. 395 Fußnote).

Immunisierungsversuche mit Trockenblut.

Nachdem festgestellt war, daß genügend getrocknetes Virusblut eine Infektion der Meerschweinchen nicht mehr hervorruft, erschien es aussichtsreich, zu untersuchen, ob durch mehrfache Vorbehandlung mit Trockenvirus sich eine **aktive Immunität** würde erzielen lassen.

Es wurde von dem in Petrischalen bei Zimmertemperatur angetrockneten Blut mit NaCl eine Auflösung hergestellt und jeweils zumeist 2,0 ccm Meerschweinchen i.p. eingespritzt.

Versuch I vom 10. XI. 1915.

- 1) Meerschw. 447: 5,0 ccm i.p.
16. XI. 4,0 ccm i.m. 20. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Spir. waren nicht abgetötet.
- 2) Meerschw. 448: 6,0 ccm i.p.
16. XI. 4,0 ccm i.p. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Spir. waren nicht abgetötet.

Ergebnis: Das Virus war in diesen Fällen bei der zweiten Einspritzung des Trockenblutes noch nicht abgetötet; die Trocknung war offenbar nicht genügend gewesen.

Versuch II vom 20. XI. 1915.

- 1) Meerschw. 285: 2,0 ccm i.p., gesund.
2. XII. 2,0 ccm i.p.
10. XII. 2,0 ccm i.p.
25. XII. 2,0 ccm i.p.
13. I. 2,0 ccm i.p.
1. II. 2,0 ccm i.p.
6. II. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberaufschwemmung.
12. II. gelb. † Befund typisch.
- 2) Meerschw. 374: 2,0 ccm i.p., gesund.
2. XII. 2,0 ccm i.p.
10. XII. 2,0 ccm i.p.
25. XII. 2,0 ccm i.p.
13. I. 2,0 ccm i.p.
1. II. 2,0 ccm i.p.
14. II. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberaufschwemmung.
18. II. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 3) Meerschw. 314: 2,0 ccm i.p., gesund.
2. XII. 2,0 ccm i.p.
10. XII. 2,0 ccm i.p.
25. XII. 2,0 ccm i.p.

- 13. I. 2,0 ccm i.p.
- 1. II. 2,0 ccm i.p.
- 19. II. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberaufschwemmung.
- 24. II. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 4) Meerschw. 446: 2,0 ccm i.p., gesund.
- 2. XII. 2,0 ccm i.p.
- 10. XII. 2,0 ccm i.p.
- 25. XII. 2,0 ccm i.p.
- 13. I. 2,0 ccm i.p.
- 1. II. 2,0 ccm i.p.
- 19. II. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberaufschwemmung.
- 24. II. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Selbst durch eine 6-malige Vorbehandlung mit angetrocknetem Virusblut hat sich eine aktive Immunität nicht erzielen lassen. Bei der Nachimpfung sind die Tiere prompt erkrankt.

Versuch III vom 10. XII. 1915.

- 1) Meerschw. 748: 2,0 ccm i.p.
- 25. XII. 2,0 ccm i.p.
- 13. I. 2,0 ccm i.p.
- 1. II. 2,0 ccm i.p.
- 6. II. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberaufschwemmung.
- 14. II. gelb. † Befund typisch.
- 2) Meerschw. 749: 2,0 ccm i.p.
- 25. XII. 2,0 ccm i.p.
- 13. I. 2,0 ccm i.p.
- 1. II. 2,0 ccm i.p.
- 14. II. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberaufschwemmung.
- 18. II. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 3) Meerschw. 750: 2,0 ccm i.p.
- 25. XII. 2,0 ccm i.p.
- 13. I. 2,0 ccm i.p.
- 1. II. 2,0 ccm i.p.
- 19. II. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberaufschwemmung.
- 24. II. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.
- 4) Meerschw. 751: angetrocknetes Blut vom 19. XI. (dicker Brei).
- 2,0 ccm i.p.
- 25. XII. 2,0 ccm i.p.
- 13. I. 2,0 ccm i.p.
- 1. II. 2,0 ccm i.p. 14. II. †, nicht gelb. Spir. (Leber) 0.

Ergebnis: Auch hier ist nach 4-maliger Einspritzung eine aktive Immunität nicht einge-

treten, wie die prompte Erkrankung bei der Nachimpfung beweist.

Zu ähnlichen Ergebnissen führten einige Versuche mit angetrockneten spirochätenhaltigem Lebermaterial.

Es gehören hierher auch die später aufgeführten Versuche über Haltbarkeit und Resistenz der Spirochäten gegen chemische Mittel. Tiere, die mit durch physikalische oder chemische Mittel abgetötetem Virus eingespritzt (1mal) und nicht erkrankt waren, sind bei Nachimpfung mit virushaltigem Material prompt erkrankt.

Auch die Tiere, die nach Einspritzung einer Mischung (oder getrennt) von Immunserum resp. Rekonvaleszenten-serum und Virus nicht erkrankt waren, sind bei der Nachimpfung erkrankt (s. oben).

Es scheint also, als ob durch abgetötetes Virus eine aktive Immunität sich nicht erzielen läßt.

Unter Chemotherapie siehe Versuche, in denen das Virus nicht ganz abgetötet war.

Wir haben weiterhin umfangreiche Versuche über die

Widerstandsfähigkeit des Virus gegen äußere Einflüsse

angestellt, um Grundlagen zu schaffen für die Abtötung des Virus außerhalb der Tierkörper.

Diese Versuche sind für die Desinfektionspraxis von Wichtigkeit.

Zunächst untersuchten wir, wie sich das Virus verhält, wenn man es bei gewöhnlicher Temperatur längere Zeit stehen läßt.

Haltbarkeitsversuch I (gewöhnliche Temperatur).

Virusblut (defibriniert, Serum zum Teil abzentrifugiert) wird in ungeheiztem Zimmer (8—12°) stehen gelassen.

Das Blut ist am 4. X. 1915 gewonnen (in Röhrchen zu 1,0 ccm).

1. Einspritzung am 4. X. 1915 abends:

Meerschweinchen Kopf rot: 1,0 ccm i.p. 10. X. gelb, entblutet. Befund typisch.

2. Einspritzung am 5. X. 1915 abends:

Meerschweinchen 1,0 ccm i.p. 10. X. gelb, entblutet. Befund typisch.

3. Einspritzung am 6. X. 1915 abends:

Meerschweinchen: 1,0 ccm i.p. 11. X. gelb, entblutet. Befund typisch.

4. Einspritzung am 7. X. 1915 abends:

Meerschweinchen: 1,0 ccm i.p. 13. X. gelb. 14. X. entblutet. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Demnacherwies sich defibriniertes Blut in ungeheiztem Zimmer (bei Tageslicht) aufgehoben, noch nach 3 Tagen als infektiös.

Haltbarkeitsversuch II.

13. X. 1915. Es wurden 4 Röhrchen mit je 1,0 ccm Virusblut um 7³⁰ Uhr in ungeheiztem Zimmer aufgestellt.

1. Einspritzung am 15. X. 1915.

Meersch. 20: 1,0 ccm i.p. 21. X. gelb. 23. X. †. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

2. Einspritzung am 16. X. 1915.

Meersch. 26: 1,0 ccm i.p. 23. X. gelb, geschlachtet. Befund typisch. Auf Spirochäten nicht untersucht.

3. Einspritzung am 18. X. 1915.

Meersch. 60: 1,0 ccm i.p. 25. X. gelb, geschlachtet. Befund typisch. Auf Spirochäten nicht untersucht.

4. Einspritzung am 20. X. 1915.

Meersch. 107: 1,0 ccm i.p. 28. X. gelb, geschlachtet. Befund typisch. Spir. (Leber) +, Niere +.

Ergebnis: Auch in 7 Tage unter gleichen Verhältnissen wie in Versuch I aufbewahrtem Virusblut konnte keine Schädigung des Virus festgestellt werden. Das 7 Tage alte Blut verursachte ebenso wie das 2 Tage alte Blut den Tod des Tieres nach 8 Tagen.

Auch mit virushaltigem Urin stellten wir ähnliche Versuche an.

Urin-Haltbarkeitsversuch.

Meerschweinchen-Urin wird bei Zimmertemperatur hingestellt am 14. X. 1915.

14. X. 1915. Meersch. 17: 0,5 ccm i.p. (Kontrolle.) 21. X. gelb. 22. X. †, typischer Befund. Spir. (Leber) ++.

15. X. Meersch. 22: 0,5 ccm i.p. 25. X. gelb, geschlachtet. Typischer Befund. Spir. (Leber) +.

17. X. Meerschw. 39: 0,5 ccm i.p. (3 Tage alt), nicht erkrankt.
Am 1. XI. nachgeimpft. 8. XI. †, typisch erkrankt. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Bei Zimmertemperatur in Reagenzröhrchen (bei Tageslicht) aufbewahrter Meerschweinchenurin erwies sich somit noch nach 24 Stunden als infektiös. Die Virulenz der gleichen Urinmenge scheint indessen abgenommen zu haben, da im Vergleich zum Kontrolltier die Krankheitsdauer um 3 Tage verlängert wurde. 3 Tage alter Urin derselben Herkunft war nicht mehr virulent, hat auch keine Immunität im Tierkörper, soweit durch Nachimpfung festzustellen war, zurückgelassen.

Antrocknungsversuch.

A. 2,0 ccm Virusblut vom 11. X. 1915 werden in Petrischalen bei Zimmertemperatur angetrocknet:

I. Von 11 Uhr vormittags bis 9 Uhr abends (10 Stunden), dann mit physiologischer NaCl aufgelöst und eingespritzt:

Meerschweinchen: i.p., gesund geblieben; am 1. XI. nachgeimpft und typisch erkrankt am 7. XI.

II. Vom 11. X. 11 Uhr vormittags bis 12. X. 10¹⁵ Uhr abends (35¹/₄ Stunden), dann aufgelöst und eingespritzt:

Meerschweinchen: i.p., gesund geblieben; am 1. XI. nachgeimpft und typisch erkrankt am 7. XI.

Kontrolle mit 2,0 ccm des gleichen, nicht angetrockneten Blutes typisch erkrankt.

B. Mischblut vom 12. X. 2,0 ccm in Petrischalen angetrocknet, wird am 14. X. (nach 48 Stunden!) in physiologischer NaCl aufgelöst und eingespritzt:

Meerschw. 14: i.p., gesund geblieben; am 1. XI. nachgeimpft und typisch erkrankt.

Kontrolle mit 2,0 ccm des gleichen, nicht angetrockneten Blutes erkrankt.

C. 2,0 ccm Mischblut vom 20. X. in Petrischalen bei 37° C angetrocknet, nach 3 Stunden aufgelöst und eingespritzt:

Meerschw. 108: i.p., gesund geblieben.

Kontrolle mit 2,0 ccm des gleichen, nicht angetrockneten Blutes erkrankt.

Hier sei auch hingewiesen auf die oben beschriebenen Immunisierungsversuche mit Trockenblut.

Ergebnis: Gegen Antrocknung hat sich das Virus der Weilschen Krankheit mithin als recht empfindlich erwiesen. In Versuch C war die Antrocknung der in Petrischalen ausgegossenen Blutmengen bei Brutschranktemperatur von 37° erfolgt. Das Virus war nach 3 Stunden abgetötet, wobei zu berücksichtigen ist, daß die Antrocknung selbst doch eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt.

Eine 17—20 Tage nach dieser Behandlung erfolgte Nachimpfung mit virulenter Meerschweinchen-Leberbreiaufschwemmung hatte innerhalb des dem gewöhnlichen Krankheitsverlauf entsprechenden Zeitraumes den Tod des Tieres zur Folge. Eine aktive Schutzwirkung konnte demnach nicht festgestellt werden. Vgl. Versuche über aktive Immunisierung.

Daß die Temperatur von 37° nicht allein an der Abtötung schuld ist, beweist die Tatsache, daß flüssiges Blut, im Reagenzglas 20 Stunden bei 37° gehalten, noch krankmachend wirkte. (Siehe folgenden Versuch.)

37° C-Versuch.

Virusblut bleibt im Reagenzglase 20 Stunden bei 37° stehen (am 12. X. angesetzt).

13. X. 1915. Meerschw.: 1,0 ccm i.p. 22. X. gelb. 23. X. †, typischer Befund.

Kontrolle am 12. X.: 1,0 ccm Virusblut i.p. 18. X. †, typischer Befund.

Ergebnis: 20-stündige Aufbewahrung von Virusblut im Brutschrank bei 37° hat seine Infektiosität also nicht aufgehoben. Immerhin dauerte die Zeit bis zum Gelbwerden des Tieres 9 Tage, während das Kontrolltier bereits nach 6 Tagen charakteristische Erscheinungen bot.

Da 2 Tiere, die mit 2 und 3 Tage altem, in gleicher Weise aufbewahrtem Blut behandelt, vorzeitig an Sepsis eingingen, besteht die Möglichkeit, daß das Virus durch bakterielle Verunreinigungen des Virusblutes geschädigt war. (Vgl. die Ergebnisse von Hübener und Reiter, die 7 Tage altes Brutschrank-Blut noch virulent fanden.)

Erhitzungsversuche.

Defibriniertes Blut.

A. 11. X. 1915. I. Unerhitzt:

1) Meerschw. weiß: 1,0 ccm i.c. 13. X. tot gefunden.

2) Meerschw. weiß-schwarz: 2,0 ccm i.p. 17. X. gelb. 19. X. †, typischer Befund.

II. Erhitzt 1 Stunde auf 55° C (im Wasserbad):

Meerschw. rechte Seite schwarz: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

1. XI. nachgeimpft. 7. XI. erkrankt; † typischer Befund. Spir. (Leber) +.

B. 4. XI. 1915. I. Unerhitzt:

Meerschw. 286: 1,0 ccm i.c. 8. XI. gelb. 9. XI. gelb.

II. Erhitzt:

1) 1/2 Stunde auf 55° C:

Meerschw. 283: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leber i.p. 19. XII. gelb. † Befund typisch. Präparat nicht gemacht.

2) 1/2 Stunde auf 50° C:

Meerschw. 284: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

Nachgeimpft 11. XII. mit 2,0 ccm Leber i.p. 16. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

3) 1/2 Stunde auf 45° C:

Meerschw. 285: 1,0 ccm i.c. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Urin-Erhitzungsversuch.

Urin von Meerschweinchen, der 6 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hat.

11. X. 1915. I. Unerhitzt:

Meerschw.: 1,0 ccm i.p. 21. X. gelb.

II. Erhitzt 1/2 Stunde auf 70° C:

Meerschw.: 1,0 ccm i.p., gesund geblieben. Am 1. XI. nachgeimpft und typisch erkrankt.

Ergebnis: Eine Temperatur von 45° C tötet das im Blut befindliche Virus in 1/2 Stunde also nicht ab. Es kann jedoch wohl eine Schädigung festgestellt werden, da das mit dem erhitzten Blut geimpfte Meerschweinchen erst nach 11 Tagen gelb wird, gegenüber 4 Tagen Krankheitsdauer beim Kontrolltier.

Bei 50° und 55° wird das Virus in 1/2 Stunde abgetötet. Im Urin wurde das Virus bei 70° in 1/2 Stunde

vernichtet. Weitere Versuche bei niedrigerer Temperatur sind mit Urin bisher nicht angestellt worden.

Einwirkung der Fäulnis.

Fragestellung: Wie lange sind die Spirochäten in spirochätenhaltiger Meerschweinchenleber nachweisbar, die in einer Petrischale bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird?

I. Bei mikroskopischer Untersuchung.

Am 20. X. 1915 12³⁰ Uhr wird eine stark spirochätenhaltige Meerschweinchenleber bei Zimmertemperatur hingelegt. Am 23. X. sind Spirochäten im Gemisch von Fäulniskeimen noch nachweisbar, von da an nicht mehr.

II. Bei Verimpfung auf Meerschweinchen.

A.

- 1) Nach 27-stündiger Aufbewahrung (21. X. 3 Uhr):
Meerschw. 119: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 27. X. gelb.
28. X. †, typischer Befund. Spir. (Leber) +.
- 2) Nach 76-stündiger Aufbewahrung (23. X. 4 Uhr):
Meerschw. 151: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 24. X. † Sepsis.
- 3) Nach 5-tägiger Aufbewahrung (25. X. 12³⁰ Uhr, faul):
Meerschw. 173: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p., gesund geblieben.
Bei der späteren Nachimpfung typisch erkrankt.
- 4) Nach 7-tägiger Aufbewahrung (27. X. 12³⁰ Uhr, faul):
Meerschw. 199: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 28. X. † Sepsis.

B.

Von Meerschweinchen D, entblutet am 10. X. 1915, bleiben Organe 24 Stunden liegen bei Zimmertemperatur. Aufschwemmung von Leber, Herz, Nieren.

Meerschw. Kopf rot: 2,5 ccm i.p. 17. X. gelb. 19. X. † Befund typisch.

Meerschw. Rücken rot: 1,0 ccm i.p. 19. X. gelb. † Befund typisch.

Ergebnis: Es gelang, noch nach 3 Tagen Spirochäten mikroskopisch nachzuweisen. Bei längerer Einwirkung nehmen offenbar die Fäulniserreger derart überhand, daß eine Zerstörung der Spirochäten stattfindet.

Der Tierversuch ergab noch nach 27-stündiger Aufbewahrung der Leber prompte Erkrankung des Meerschweinchen. Verimpfung der 3-tägigen Leber hatte vorzeitigen Tod an Sepsis zur Folge. Einverleibung der 5-tägigen Leber verursachte keine Erkrankung des Tieres.

Wieweit hier eine Vernichtung der Spirochäten vor der Verimpfung stattgefunden hatte oder die Infektion durch Anwesenheit von Fäulnisregnern in dem verimpften Material verhindert wurde, kann nicht entschieden werden.

Kälteversuche.

I.

22. XI. 1915. Virusblut von 424, 395 und Kopf rot. Um 5 Uhr werden je 2,0 ccm in Röhrchen in Kältemischung untergetaucht, frieren ein (draußen im Garten). Blut in toto gefroren. 2 Röhrchen bleiben bei Zimmertemperatur zur Kontrolle stehen.

Am 24. XI. (um 5 Uhr) wird ein Röhrchen aufgetaut bei Zimmertemperatur (also nach 48 Stunden).

Meerschw. 432: 17. XII. gesund.

Kontrolle (Zimmertemperatur). 24. XI. Meerschw. 457: 17. XII. gesund.

Am 25. XI. morgens war die Kältemischung vollständig aufgetaut, daher werden die Röhrchen herausgenommen und verimpft.

Meerschw. 84: 17. XII. gesund.

Meerschw. 89: 17. XII. gesund.

Kontrolle: Meerschw. 171: 17. XII. gesund.

Ergebnis: Da die Kontrollen nicht erkrankt sind, kann aus diesem Versuch ein Schluß nicht gezogen werden.

II.

17. XII. 1915. Blut seit 14. XII. abends draußen, 2 Tage gefroren gewesen, dann aufgetaut, da Tauwetter.

Meerschw. 806: 2,0 ccm i.p. 25. XII. †, nicht gelb. Befund 0. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 807: 2,0 ccm i.p. 31. XII. †, nicht gelb. Befund 0. Spir. (Leber) 0.

Kontrollen, ebensolange bei Zimmertemperatur:

Meerschw. 804: 2,0 ccm i.p. 23. XII. gelb. † Befund typisch. Spir.?

Meerschw. 805: 2,0 ccm i.p. 25. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Die mit gefroren gewesenem Blut geimpften Meerschweinchen sind nach 8 bzw. 14 Tagen gestorben ohne charakteristischem Befund. Zum mindesten scheint also die Kälte eine Schädigung der Spirochäten zur Folge gehabt zu haben. Die Versuche müssen wiederholt werden.

Wir gingen dann dazu über, die

Widerstandsfähigkeit des Virus gegen chemische Einflüsse
zu prüfen.

A.

Zunächst war festzustellen, ob gewöhnliches destilliertes Wasser allein schädigend auf das Virus einwirkt.

Versuch I.

2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm dest. Wasser wird $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur hingestellt. (Blut wird lackfarben.)

28. X. 1915. Meersch. 215: i.p. 4. XI. gelb. 5. XI. †, typischer Befund. Spir. (Leber) ++.

Versuch II.

Virusblut mit dest. Wasser versetzt, wird $1\frac{3}{4}$ Stunde bei Zimmertemperatur gehalten.

28. X. 1915. Meersch. 217: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm destill. Wasser i.p. 5. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen: Virusblut wird $1\frac{3}{4}$ Stunden stehen gelassen.

Meersch. 209: 2,0 ccm des gleichen Blutes ohne Zusatz (defibriniert). 4. XI. gelb. 5. XI. †, typischer Befund. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 210: 2,0 ccm des gleichen Blutes ohne Zusatz (defibriniert). 5. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Versuch III.

Virusblut, mit dest. Wasser versetzt, wird 6 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten.

10. XII. 1915. Meersch. 752: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm dest. Wasser i.p. 16. XII. gelb. 17. XII. †, Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 753: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm dest. Wasser i.p. 16. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrollen: Virusblut, mit physiologischer NaCl versetzt, wird 6 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten.

Meersch. 754: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm physiologischer NaCl i.p. 16. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 755: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm physiologischer NaCl i.p. 16. XII. gelb. 17. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber): schlechte Färbung (Niederschläge), Spirochäten nicht zu erkennen.

Versuch IV.

Virusblut, mit dest. Wasser versetzt, wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten.

17. XII. 1915. Meersch. 810: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm dest. Wasser i.p. 23. XII. gelb. 24. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 811: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm dest. Wasser i.p. 23. XII. gelb. 25. XII. gelb. † Befund typisch. (Spir. (Leber) ++.

Kontrollen: Virusblut, mit physiologischer NaCl versetzt, wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten.

Meersch. 812: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm physiologischer NaCl i.p. 22. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 813: 2,0 ccm Virusblut + 6,0 ccm physiologischer NaCl i.p. 23. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Durch destilliertes Wasser¹⁾ ist das Virus im Blute nach $\frac{1}{2}$, $1\frac{3}{4}$, 6 Stunden gar nicht, nach 24-stündiger Einwirkung wohl kaum geschädigt worden.

B.

Wirkt der Zusatz von Natriumzitratlösung zum Virusblut schädigend auf das Virus?

Virusblut vom 3. X. wird in gewöhnlicher Weise in Natriumzitratlösung aufgefangen und bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Am 4. X. wird Meerschweinchen mit 2,0 ccm i.p. eingespritzt. 10. X. gelb. 11. X. †, typischer Befund.

Ergebnis: Das Virus ist also im Blut bei 24-stündiger Vermischung mit Natriumzitratlösung nicht geschädigt.

C.

Wirkt Rindergalle (frisch vom Schlachthof) schädigend auf das Virus ein?

Einwirkungszeit 2 Stunden.

6. XII. Meersch. 625: 1,0 ccm Rindergalle + 1,0 ccm Virusblut i.p. (Blut wird lackfarben.) Gesund geblieben.

Meersch. 626: 0,1 ccm Rindergalle + 1,0 ccm Virusblut i.p. 16. XII. gelb. 17. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber): Präparat zu starke Niederschläge.

Kontrolle:

Meersch. 627: 1,0 ccm physiologische NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

1) In sterilem Leitungswasser war das Virus (zu gleichen Teilen) nach 8 Tagen noch infektiös (im ungeheizten Zimmer).

Ergebnis: Rindergalle (1:1) hat also nach 2-stündiger Einwirkung die Infektion verhindert, dagegen 0,1 ccm Rindergalle nicht. Die Versuche müssen wiederholt werden ¹⁾.

D. Kresolseifenlösung (1-proz.)

I. Virusblut und Kresolseifenlösung werden gemischt, 2 Stunden bei Zimmertemperatur hingestellt.

12. X. 1915. 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 1-proz. Kresolseifenlösung Meersch. i.p. 14. X. †, o. B., nicht gelb.

1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 2-proz. Kresolseifenlösung Meersch. i.p. 22. X. †, nicht gelb, o. B.

1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 4-proz. Kresolseifenlösung Meersch. i.p., gesund. 1. XI. nachgeimpft mit 1,0 ccm Leberbrei. 6. XI. gelb. † Befund typisch.

Kontrolle:

1,0 ccm Virusblut. 13. X. gelb? 18. X. †, typischer Befund, gelb.

Ergebnis: Also eine 1-proz. Kresolseifenlösung, in gleicher Menge zu Virusblut gesetzt, vernichtet das Virus innerhalb 2 Stunden.

II. Virusblut und Kresolseifenlösung werden gemischt, $\frac{1}{2}$ resp. 1 Stunde bei Zimmertemperatur hingestellt.

12. XI. 1915. Meersch. 486: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 1-proz. Kresolseifenlösung i.p. Einwirkungszeit $\frac{1}{2}$ Stunde. 17. XII. nicht erkrankt. Bei der Nachimpfung typisch erkrankt.

Meersch. 489: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 1-proz. Kresolseifenlösung i.p. Einwirkungszeit 1 Stunde. 20. XI. †, o. B., nicht gelb. Spir. (Leber) 0. Leber verimpft auf

20. XI. Meersch. 368: 2,0 ccm i.p. 21. XI. Seuche †. Peritonitis. Spir. (Leber) 0.

Meersch. 447: 2,0 ccm i.p. 21. XI. Seuche †. Peritonitis. Spir. (Leber) 0.

Kontrolle:

Meersch. 491: 1,0 ccm dest. Wasser + 1,0 ccm Virusblut. Einwirkungszeit 1 Stunde. 14. XI. †, Peritonitis. Spir. (Leber) 0.

Ergebnis: Es scheint schon $\frac{1}{2}$ Stunde zu genügen, um das Virus abzutöten.

1) In weiteren Versuchen wurde die abtötende Wirkung der Rindergalle bestätigt.

III. Virusblut und Kresolseifenlösung werden gemischt und ebenfalls $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur hingestellt.

18. XI. 1915. Meersch. 330: 1,0 ccm 1-proz. Kresolseifenlösung + 1,0 ccm Virusblut i.p. 17. XII. nicht erkrankt. Bei der Nachimpfung typisch erkrankt.

Meersch. 393: 1,0 ccm 1-proz. Kresolseifenlösung + 1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI. †, nicht gelb. Pneumonie! Spir. (Leber) 0.

Kontrollen:

Meersch. 460: 1,0 ccm physiologische NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 488: 1,0 ccm physiologischer NaCl. + 1,0 ccm Virusblut i.p. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Auch nach diesem Versuch scheint für die 1-proz. Kresolseifenlösung schon $\frac{1}{2}$ Stunde zur Abtötung zu genügen.

Kürzere Zeiten sind noch nicht versucht worden.

E. Karbolsäure.

I. Virusblut und Karbolsäure werden gemischt, 2 Stunden bei Zimmertemperatur hingestellt.

12. X. 1915. Meersch.: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 1-proz. Karbolsäurelösung i.p., gesund geblieben.

1. XI. nachgeimpft mit 1,0 ccm Leberbrei. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Meersch.: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 2-proz. Karbolsäurelösung i.p., gesund geblieben.

1. XI. nachgeimpft mit 1,0 ccm Leberbrei. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Meersch.: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 4-proz. Karbolsäurelösung i.p., gesund geblieben.

1. XI. nachgeimpft mit 1,0 ccm Leberbrei. 7. XI. †, typischer Befund. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Kontrolle:

Meersch.: 1,0 ccm Virusblut i.p. 18. X. gelb. † Befund typisch.

Ergebnis: Nach diesen Versuchen genügt also eine 1-proz. Karbolsäurelösung, zu gleichen Teilen Virusblut zugesetzt, um innerhalb 2 Stunden das Virus abzutöten.

II. Virusblut und Karbolsäure werden gemischt und $\frac{1}{2}$ resp. 1 Stunde bei Zimmertemperatur hingestellt.

12. XI. 1915. Meersch. 487: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 1-proz. Karbolsäure i.p. Einwirkung $\frac{1}{2}$ Stunde. 20. XI. †, nicht gelb. Pneumonie, Peritonitis. Abszeß Leber. Spir. (Leber) 0.

Leber verimpft auf

Meersch. 465: 2,0 ccm i.p. 21. XI. Seuche †. Spir. (Leber) 0.

Meersch. 498: 2,0 ccm i.p. 21. XI. Seuche †. Spir. (Leber) 0.

Meersch. 490: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 1-proz. Karbolsäure i.p. Einwirkungszeit 1 Stunde. 14. XI. †, Peritonitis, nicht gelb. Spir. (Leber) 0.

Kontrolle:

1,0 dest. Wasser + 1,0 ccm Virusblut i.p. Einwirkungszeit 1 Stunde. 14. XI. †, Peritonitis. Spir. (Leber) 0.

III. Virusblut und Karbolsäure werden gemischt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur hingestellt.

18. XI. 1915. Meersch. 277: 1,0 ccm 1-proz. Karbolsäure + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Meersch. 474: 1,0 ccm 1-proz. Karbolsäure + 1,0 ccm Virusblut i.p., gesund geblieben.

Kontrollen:

Meersch. 460: 1,0 ccm physiologische NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. Einwirkungszeit $\frac{1}{2}$ Stunde. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meersch. 488: 1,0 ccm physiologische NaCl + 1,0 ccm Virusblut i.p. Einwirkungszeit $\frac{1}{2}$ Stunde. 24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Ergebnis: Es hat also eine 1-proz. Karbolsäurelösung, in gleichen Teilen zu Virusblut zugesetzt, genügt, um das Virus in $\frac{1}{2}$ Stunde abzutöten.

Kürzere Zeiten wurden noch nicht versucht.

F. Sublimat.

I. Virusblut und Sublimatlösung werden gemischt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur hingestellt.

14. X. 1915. Meersch. 2: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 0,05-proz. Sublimatlösung i.p. 23. X. gelb. 24. X. †, typischer Befund. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 3: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 0,5-proz. Sublimatlösung i.p. 23. X. gelb. 26. X. †, typischer Befund. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Kontrolle:

Meerschw. 1: 1,0 ccm Virusblut i.p. 19. X. gelb. 20. X. †, typischer Befund. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Ergebnis: Eine $\frac{1}{2}$ -prom. und $\frac{1}{2}$ -proz. Sublimatlösung, in gleicher Menge Virusblut zugesetzt, hat demnach in 2 Stunden eine Schädigung des Virus nicht herbeigeführt.

II. Virusblut mit Sublimatlösung werden gemischt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten.

26. X. 1915. Meerschw. 186: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 0,1-proz. Sublimatlösung i.p. 2. XI. †. Kein Ikterus. Lungenbefund typisch. Spir. (Leber) 0, daher Leberaufschwemmung verimpft auf

Meerschw. 248: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 249: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 187: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 0,1-proz. Sublimatlösung i.p. 1. XI. †. Lungenbefund typisch. Keine Spur Ikterus, daher Leberaufschwemmung am 1. XI. verimpft auf

Meerschw. 234: 5. XI. gelb. † Befund typisch.

Meerschw. 235: 8. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 188: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 0,4-proz. Sublimatlösung i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 189: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm 0,4-proz. Sublimatlösung i.p. 28. X. †, Giftwirkung? Spir. (Leber) 0.

Kontrollen:

26. X. 1915. Meerschw. 194: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm physiologische NaCl i.p. 1. XI. gelb. 2. XI. †, typischer Befund. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 195: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm physiologische NaCl i.p. 31. X. gelb. 2. XI. †, typischer Befund. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Eine 0,05-, 0,1- und 0,5-proz. Sublimatlösung, in gleicher Menge Virusblut zugesetzt, hat demnach in 2 Stunden eine Abtötung des Virus nicht bedingt.

In den Versuchen mit 0,1-proz. Sublimatlösung ist der Sektionsbefund der spontan gestorbenen Tiere insofern auffällig, als der sonst regelmäßig zu beobachtende Ikterus fehlte. Der Lungenbefund war typisch. Die Weiterverimpfung der

Lebern rief wieder typische Erkrankungen einschließlich Gelbfärbung hervor. Ob durch die Sublimatwirkung eine Schädigung der Spirochäten in dem Sinne stattgefunden hatte, daß es zur Bildung von Gallenfarbstoffen im Kreislauf nicht kam, soll dahingestellt bleiben.

0,4-proz. Sublimatlösung vernichtete in einem Versuche unter den gleichen Verhältnissen das Virus.

Die bei der geringen Konzentration zum Ausdruck kommende Hemmung der Desinfektionswirkung infolge des hohen Eiweißgehaltes der Mischung tritt bei der stärkeren Konzentration zurück.

G. Antiformin.

I. Virusblut und Antiforminlösung werden gemischt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur hingestellt.

12. X. 1915. Meersch.: 1,0 cem Virusblut + 1,0 cem 0,1-proz. Antiformin i.p. 21. X. gelb. 22. X. †, typischer Befund. Spir. (Leber) +.

Meersch.: 1,0 cem Virusblut + 1,0 cem 1-proz. Antiformin i.p. 18. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch.: 1,0 cem Virusblut + 1,0 cem 10-proz. Antiformin i.p. 22. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Kontrolle:

Meersch.: 1,0 cem Virusblut i.p. 18. X. gelb. † Befund typisch.

II. Virusblut und Antiforminlösung werden gemischt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur hingestellt. Die Blutlösungen sind gallertig-zähschleimig bis dickflüssig. Werden mit physiologischer NaCl verdünnt eingespritzt, da sie sonst nicht durch die Spritze gehen.

26. X. 1915. Meersch. 190: 1,0 cem Virusblut + 1,0 cem 5-proz. Antiformin i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 191: 1,0 cem Virusblut + 1,0 cem 10-proz. Antiformin i.p., gesund.

Meersch. 192: 1,0 cem Virusblut + 1,0 cem 20-proz. Antiformin i.p. 29. X. †, o. B. Spir. (Leber) +.

Meersch. 193: 1,0 cem Virusblut + 1,0 cem 20-proz. Antiformin i.p., gesund geblieben.

Kontrollen:

Meersch. 194: 1,0 cem Virusblut i.p. 1. XI. gelb. 2. XI. †, typischer Befund. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Meersch. 195: 1,0 cem Virusblut i.p. 31. X. gelb. 2. XI. †, typischer Befund. Auf Spirochäten nicht untersucht.

Ergebnis: Antiforminlösungen von 0,1, 1,0, 5,0 und 10,0 Proz., in gleicher Menge Virusblut zugesetzt, erzielen in 2 Stunden keine vollständige Abtötung des Virus. Diese Tatsache spricht nicht etwa für eine Antiforminresistenz der Spirochäten, sondern beweist nur, daß die Antiforminlösungen im defibrinierten Blut mehr oder weniger unwirksam werden. Bei der 5- und 10-proz. Lösung ist eine Verzögerung des Krankheitsverlaufs, bei der 10-proz. in einem Falle ein Gesundbleiben des Tieres zu beobachten. Bei Anwendung der 20-proz. Antiforminlösung findet Zerstörung der Spirochäten statt.

H. Aether.

I. Virusblut und Aether gemischt, bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde im geschlossenen Reagenzglase bei Zimmertemperatur stehen (mehrfach umgeschüttelt!).

12. X. 1915. Meerschw.: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm Aether i.p., gesund geblieben.

1. XI. nachgeimpft mit 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. †, typischer Befund.

Kontrolle:

Meerschw.: 1,0 ccm Virusblut i.p. 18. X. gelb. †, Befund typisch.

Ergebnis: Aether, in gleicher Menge Virusblut zugesetzt, vernichtete mithin die Spirochäten innerhalb einer halben Stunde.

II. Virusblut und Aether gemischt, bleiben in geschlossenem Reagenzglase (unter Umschütteln) $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen.

18. XI. 1915. Meerschw. 454: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm Aether.

20. XI. †, Aethervergiftung, o. B. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 412: 1,0 ccm Virusblut + 1,0 ccm Aether, gesund geblieben. Spir. (Leber) 0.

Kontrollen:

Meerschw. 460: 1,0 ccm physiologische NaCl + 1,0 ccm Virusblut.

24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

Meerschw. 488: 1,0 ccm physiologische NaCl + 1,0 ccm Virusblut.

24. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Ergebnis: Auch in diesem Versuch genügte $\frac{1}{2}$ Stunde zur Abtötung des Virus durch Aether.

Alle diese Versuche beweisen, daß das Virus gegen äußere Einflüsse verhältnismäßig wenig widerstandsfähig ist, und daß man mit den gebräuchlichen Desinfektionsmitteln (Kresolseifenlösung, Karbolsäure) schon in geringer Konzentration und kurzer Zeit eine Abtötung des Virus der Weilschen Krankheit erzielen kann¹⁾.

Die verhältnismäßig geringe Widerstandsfähigkeit des Virus gegenüber äußeren Einflüssen ließ auch seine Abtötung in vivo aussichtsvoll erscheinen.

Chemotherapie.

Im Hinblick auf die Tatsache, daß Spirochäten als Erreger der Weilschen Krankheit anzusehen sind, erschien es geboten, die Arsenikalien im Tierversuch einer experimentell-therapeutischen Prüfung zu unterziehen. Es gibt wohl kaum eine Krankheit, mit der man im Laboratorium so ausgezeichnet experimentell-therapeutische Versuche machen kann, wie der infektiöse Ikterus des Meerschweinchens. Die Beurteilung der angegangenen Infektion durch die Gelbfärbung der Skleren schon nach wenigen Tagen ist außerordentlich bequem und eindeutig. Die Tiere gehen an der Infektion fast ohne Ausnahme zugrunde und der Sektionsbefund ist so eindeutig, daß man das Resultat des Versuches mathematisch sicher ablesen kann.

In erster Linie wurde Neosalvarsan versucht. Weiterhin kamen in Anwendung: Atoxyl, Hydrargyrum atoxylicum, Argentum atoxylicum, Stibium colloïdale, Argentum colloïdale, Collargol, Optochin (Morgenroth).

Neosalvarsan.

Wir lassen zunächst die Versuchsprotokolle folgen.

I. Versuch.

Die Meerschweinchen wurden 2 Tage vor der Behandlung (12. X. 1915) mit 1,0 ccm Leberemulsion infiziert. 14. X. 1915 0,5 g Neosalvarsan in Ampullen + 6,0 ccm dest. Wasser (= 1:20).

1) Auch HCl, in Verdünnung von 1:100 zu gleichen Teilen zu Virusblut zugesetzt, hat das Virus nach 20 Minuten abgetötet, bei 1:200 und 1:400 fand eine Abtötung nicht statt. Ebenso tötet Glyzerin das Virus (zu gleichen Teilen) schnell ab.

Meerschw. 8: 2,0 ccm (= 0,1) i.m. 17. X. †, Vergiftung; nicht gelb, starkes Infiltrat.

Meerschw. 9: 2,0 ccm (= 0,1) i.m. 17. X. †, Vergiftung; nicht gelb, starkes Infiltrat.

II. Versuch.

Die Tiere wurden einen Tag vor der Behandlung (am 16. X. 1915) mit 1,0 ccm Leberemulsion infiziert.

17. X. 1915. Meerschw. 48: 0,05 g in 0,5 ccm dest. Wasser i.m. 22. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 49: 0,01 g in 0,2 ccm dest. Wasser i.m. 22. X. gelb. 23. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

III. Versuch.

Die Tiere sind 5 Tage vor der Behandlung (am 12. X.) mit 1,0 ccm Leberemulsion infiziert.

17. X. 1915. Meerschw. 46: 0,05 g in 0,5 ccm dest. Wasser i.m., bei der Einspritzung schon gelb. 18. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 47: 0,01 g in 0,2 ccm dest. Wasser i.m., bei der Einspritzung schon gelb. 18. X. † Befund typisch. Auf Spirochäten nicht untersucht.

IV. Versuch.

6 Tiere werden 2 Tage vor der Behandlung (am 16. X.) infiziert.

18. X. 1) Meerschw. 115: 0,05 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 18. X. † (Vergiftung).

2) Meerschw. 116: 0,05 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

21. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

22. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 23. X. gelb. 27. X. † Befund typisch. Auf Spir. nicht untersucht.

3) Meerschw. 117: 0,05 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

21. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

22. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 24. X. gelb. 25. X. Keratitis. † Befund typisch. Auf Spir. nicht untersucht.

4) Meerschw. 118: 0,05 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 23. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

5) Meerschw. 119: 0,05 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 22. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

6) Meerschw. 59: 0,05 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 23. X. gelb. 24. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen: Von den 6 unbehandelten Tieren starben 4 bis zum 24. X. unter typischem Befund, 2 blieben gesund (anscheinend refraktär).

V. Versuch.

19. X. 1915. Meerschw. 75–78 wurden um 5 Uhr mit je 2,0 ccm Leberemulsion infiziert. Um 9 Uhr Behandlung.

1) Meerschw. 75: 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

21. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

22. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 26. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

2) Meerschw. 76: 0,01 g in 2,0 dest. Wasser i.m.

21. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

22. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 27. X. gelb. † Befund typisch. Auf Spir. nicht untersucht.

3) Meerschw. 77: 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

21. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

22. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m. 25. X. gelb. 27. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

4) Meerschw. 78: 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

21. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m.

22. X. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.m., bleibt gesund.

10. XI. nachgeimpft mit 10,0 ccm Leberemulsion. 16. XI. † Peritonitis. Spir. (Leber) 0.

Kontrollen: Von 4 unbehandelten Tieren starben 3 unter typischem Befund. 1 Kontrolle bleibt gesund (refraktär?).

VI. Versuch.

8. XI. Die Tiere wurden um 12 Uhr mittags mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. infiziert. Um 6 Uhr erfolgte die Behandlung.

Meerschw. 355: 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p.

10. XI. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p.

12. XI. 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p. 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 356: 0,01 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.c. 9. XI. †. Ohne Befund.

VII. Versuch.

Am 14. XI. 1915 abends 6,30 Uhr werden Tiere mit 1,0 ccm Leberemulsion i.p. infiziert. Am 15. XI. mittags Behandlung.

Meerschw. 374: 0,02 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p.

17. XI. 0,02 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p.

18. und 19. XI. schlapp. 20. XI. gelb. † Befund typisch. Präparat (Leber): Niederschläge!

Meerschw. 375: 0,03 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p.

17. XI. 0,02 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p. 19. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 491: 0,05 g in 2,0 ccm dest. Wasser i.p. 16. XI. †, Vergiftung.

Zur Feststellung seiner etwaigen Heilwirkung wurde das Neosalvarsan nach verschiedenen Gesichtspunkten untersucht. Einzelheiten der Versuche sind vorstehenden Protokollen zu entnehmen. Die Ergebnisse sind in 4 Gruppen in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I. Neosalvarsan.

Datum	Bezeichnung des Versuchs- tieres	Menge des Mittels	Impf- art	Infek- tion erfolgte vor	Krankheits- dauer in Tagen		Befund und Bemerkungen
					seit Infek- tion	seit letzter Behandl.	
Gruppe A.							
14. X.	Meersch. 8	0,1	i.m.	2 Tagen	5	3	typischer Befund
14. X.	Meersch. 9	0,1	"	2 "	5	3	" "
18. X.	Meersch. 115	0,05	"	2 "	2 1/2	1 1/2	Vergiftungserscheinungen
18. X.	Meersch. 118	0,05	"	2 "	7	5	typischer Befund. Spir. +
18. X.	Meersch. 119	0,05	"	2 "	6	4	" " Spir. +
18. X.	Meersch. 59	0,05	"	2 "	8	6	" " Spir. +
15. XI.	Meersch. 491	0,01	i.p.	1 Tage	2	1	Vergiftung!
17. X.	Meersch. 46	0,01	i.m.	5 Tagen	6	1	typischer Befund. Spir. +
17. X.	Meersch. 47	0,01	"	5 "	6	1	" " Spir. nicht untersucht
17. X.	Meersch. 48	0,05	i.m.	1 Tage	5	4	typischer Befund. Spir. ++
17. X.	Meersch. 49	0,01	"	1 "	6	5	" " Spir. +
Kontrollen zu den Versuchen der Gruppe A typisch erkrankt							
Gruppe B.							
19. X.	Meersch. 75	0,01	i.m.	4 Std.	7	7	typischer Befund. Spir. +
		+ 0,01	"	2 Tagen	7	5	
		+ 0,01	"	3 "	7	4	
19. X.	Meersch. 76	0,01	"	4 Std.	8	8	typischer Befund. Spir. nicht untersucht
		+ 0,01	"	2 Tagen	8	6	
		+ 0,01	"	3 "	8	5	
19. X.	Meersch. 77	0,01	"	4 Std.	8	8	typischer Befund. Spir. +
		+ 0,01	"	2 Tagen	8	6	
		+ 0,01	"	3 "	8	5	
19. X.	Meersch. 78	0,01	"	4 Std.	.	.	bleibt gesund. Nachgeimpft 10. XI. 16. XI. + Pleuritis u. Peritonitis. Spir. 0
		+ 0,01	"	2 Tagen	.	.	
		+ 0,01	"	3 "	.	.	
Von 4 Kontrollen der Versuche vom 19. X. bleibt 1 Tier gesund							
8. XI.	Meersch. 355	0,01	i.c.	6 Std.	8	8	typischer Befund. Spir. +
		+ 0,01	i.p.	2 Tagen	8	6	
		+ 0,01	i.p.	4 "	8	4	
8. XI.	Meersch. 356	0,01	i.c.	6 Std.	1	1	Vergiftung, ohne Befund
Kontrollen typisch erkrankt							
Gruppe C.							
15. XI.	Meersch. 374	0,02	i.p.	1 Tage	.	.	typischer Befund. Spir. wegen Niederschläge im Präparat nicht untersucht
		+ 0,02	"	2 Tagen	6	4	
15. XI.	Meersch. 375	0,03	i.p.	1 Tage	5	4	typischer Befund. Spir. +
		+ 0,02	"	2 Tagen	5	3	

Datum	Bezeichnung des Versuchs- tieres	Menge des Mittels	Impf- art	Infek- tion erfolgte vor	Krankheits- dauer in Tagen		Befund und Bemerkungen
					seit Infek- tion	seit letzter Behandl.	
Gruppe D.							
18. X.	Meerschw. 116	0,05	i.m.	2 Tagen	7	5	typischer Befund. Spir. nicht untersucht
		+ 0,01	"	5 "	7	2	
		+ 0,01	"	6 "	7	1	
	Meerschw. 117	0,05	"	2 "	9	7	typischer Befund. Spir. nicht untersucht
		+ 0,01	"	5 "	9	4	
		+ 0,01	"	6 "	9	3	
Von 6 Kontrollen 2 gesund							

Ueber die Toxizität des Neosalvarsans für Meerschweinchen ergibt sich zunächst folgendes:

Die von Meerschweinchen mittlerer Größe noch vertragene Menge von Neosalvarsan liegt bei 0,05—0,01 g. 2 mit 0,1 g intramuskulär gespritzte Tiere gingen nach 3 Tagen unter Vergiftungserscheinungen zugrunde. Von 8 mit 0,05 g geimpften Tieren gingen 2 am nächsten Tage ein, von denen eins intraperitoneal, das andere intramuskulär behandelt war. Die 6 übrigen Tiere machten vorübergehend einen kranken Eindruck und zeigten bei intramuskulärer Impfung Infiltration, die sich bald zurückbildete. 2 dieser Tiere vertrugen eine 2-malige intramuskuläre Nachimpfung mit je 0,01 nach 3 und 4 Tagen ohne erkennbaren Nachteil. Größere Empfindlichkeit besteht offenbar bei intracardialer Einspritzung; von 2 Tieren ging eines bei einer Dosis von 0,01 am folgenden Tage ein.

Bezüglich der therapeutischen Wirkung des Neosalvarsans läßt sich folgendes sagen:

Gruppe A: Verabreichung einmaliger Dosen von 0,1 bis 0,01 g 1—5 Tage nach der Infektion: kein Einfluß.

Gruppe B: Kleinere Dosen von 0,01 werden mehrmals intramuskulär eingespritzt, beginnend 4 Stunden, wiederholt 2 und 3 Tage nach der Infektion. In einem 2. Versuch 6 Stunden nach der Infektion intracardiale Einspritzung, Wiederholung nach 2 und 4 Tagen. Außer bei einem Tiere (Meerschw. 78) nimmt die Krankheit ihren typischen Verlauf. Meerschw. 78 bleibt gesund. Nach einer etwa 3 Wochen

später erfolgten Nachimpfung ist das Tier an Peritonitis gestorben. Da in der Leber keine Spirochäten gefunden wurden, kann vielleicht von einem gewissen Schutz gesprochen werden. Es ist fraglich, ob dieser durch die Behandlung oder durch natürliche Immunität bedingt war. Da von den 4 Kontrollen des Versuches vom 19. X. ebenfalls 1 Tier nicht erkrankte, ist nicht auszuschließen, daß nicht auch bei Meerschw. 78 das Ueberstehen der Krankheit durch eine natürliche Immunität und nicht durch eine Heilwirkung des Neosalvarsans zu erklären ist.

Gruppe C: Dosen von 0,02—0,03 werden 1 und 2 Tage nach der Infektion intraperitoneal injiziert: kein Heilerfolg.

Gruppe D: Nach erstmaligen großen Dosen von 0,05 2 Tage nach der Infektion folgen 3 und 4 Tage später Dosen von 0,01: keine Heilwirkung.

Zusammenfassend ergibt sich, daß Neosalvarsan, in verschiedener Weise angewandt, einen heilenden Einfluß auf den Verlauf der Weilschen Krankheit beim Meerschweinchen nicht hat erkennen lassen. Auch sind die Spirochäten, soweit untersucht, infolge der Behandlung nicht verschwunden.

Versuche am Menschen haben ebenfalls zu eindeutigen Ergebnissen nicht geführt.

Atoxyl.

I. Versuch (altes Präparat).

Die Meerschweinchen werden 2 Tage vor der Einspritzung infiziert: 0,5 g + 5,0 ccm dest. Wasser (1:10).

14. X. 1915. Meerschw. 10: 0,5 (0,05) ccm i.m. 18. X. nicht gelb, aber krank. 19. X. †. Sektion nicht ganz typisch für Ikterus. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 11: Lösung 10-fach verdünnt: 1,0 (0,01) ccm i.m. 17. X. †, nicht gelb, aber Sektion typisch. Spir. (Leber) +.

II. Versuch (altes Präparat).

Die Tiere werden 1 Tag vor der Behandlung infiziert (am 16. X.).

17. X. Meerschw. 50: 0,01 g in 1,0 ccm dest. Wasser i.m. 22. X. gelb. 23. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 51: 0,05 g in 0,5 ccm dest. Wasser i.m. 20. X. † (Vergiftung).

III. Versuch.

4 Meerschweinchen werden 1 Tag vor der Behandlung (am 19. X.) infiziert.

20. X. Meerschw. 94: 0,01 g in 1,0 ccm dest. Wasser i.m. 25. X. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +. Spir. (Niere) +.

Meerschw. 92: 0,01 g in 1,0 ccm dest. Wasser i.m. 25. X. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +. Spir. (Niere) +.

Meerschw. 91: 0,01 g in 1,0 ccm dest. Wasser i.m. 24. X. gelb.
25. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 93: 0,01 g in 1,0 ccm dest. Wasser i.m. 28. X. gelb.
† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

IV. Versuch (frisches Präparat).

Am 22. X. 1915 1 Uhr mittags wurden Tiere infiziert mit 1,0 ccm Leberemulsion.

22. X. Meerschw. 126: 5³⁰ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 28. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 127: 5³⁰ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 28. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 128: 5³⁰ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 28. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 129: 5³⁰ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 28. X. gelb. 29. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 130: 5³⁰ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 28. X. gelb. 29. X. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 131: 5³⁰ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 28. X. gelb. 30. X. † Befund typisch.

Ergebnis: Zur Behandlung mit Atoxyl wurden 2 Präparate angewandt. Bei dem frischen Präparat blieben trotz 2-maliger Einverleibung Heilerfolge aus, wenn das Fehlen von Spirochäten in der Leber in 1 von 6 Fällen unberücksichtigt bleibt.

Mit dem alten Präparate wurden 4 Tiere behandelt: ein mit 0,05 g gespritztes Meerschweinchen starb vorzeitig unter Vergiftungserscheinungen. Ein 2. Tier, das 2 Tage nach der Infektion 0,05 g intramuskulär erhalten hatte, starb nach 7 Tagen ohne charakteristischen Befund. Bei einem 3. Tier,

Tabelle II. Atoxyl.

Datum	Bezeichnung des Versuchstieres	Menge des Mittels	Impfart	Infektion erfolgte vor	Krankheitsdauer in Tagen		Befund und Bemerkungen
					seit Infektion	seit letzter Behandl.	
14. X.	Meerschw. 10	0,05	i.m.	2 Tagen	7	5	nicht gelb, aber krank. Sektion nicht ganz typisch für Ikterus. Spir. +
14. X.	Meerschw. 11	0,01	i.m.	2 Tagen	5	3	Ikterus, nicht gelb, sonst typischer Befund, Spir. +
17. X.	Meerschw. 50	0,01	i.m.	1 Tage	7	6	typisch, Spir. ++
17. X.	Meerschw. 51	0,05	"	1 "	4	3	Vergiftung, kein Befund für Ikterus
20. X.	Meerschw. 91	0,01	i.m.	1 "	6	5	} Befund typisch, Spir. +
20. X.	Meerschw. 92	0,01	"	1 "	6	5	
20. X.	Meerschw. 93	0,01	"	1 "	9	8	
20. X.	Meerschw. 94	0,01	"	1 "	6	5	
22. X.	Meerschw. 126	0,01	"	4 1/2 Std.	6	6	Befund typisch, Spir. ++
		+ 0,01	"	4 Tagen	6	2	
22. X.	Meerschw. 127	0,01	"	4 1/2 Std.	6	6	Befund typisch, Spir. +
		+ 0,01	"	4 Tagen	6	2	
22. X.	Meerschw. 128	0,01	"	4 1/2 Std.	6	6	Befund typisch, Spir. +
		+ 0,01	"	4 Tagen	6	2	
22. X.	Meerschw. 129	0,01	"	4 1/2 Std.	7	7	Befund typisch, Spir. +
		+ 0,01	"	4 Tagen	7	3	
22. X.	Meerschw. 130	0,01	"	4 1/2 Std.	7	7	Befund typisch, Spir. +
		+ 0,01	"	4 Tagen	7	3	
22. X.	Meerschw. 131	0,01	"	4 1/2 Std.	8	8	typisch, aber Spirochäten fraglich
		+ 0,01	"	4 Tagen	8	4	

in gleicher Weise mit 0,01 g Atoxyl behandelt, wurde bei sonst typischem Befund der Ikterus vermißt. Ein 4. Meerschweinchen, dem 0,01 g Atoxyl 1 Tag nach der Infektion einverleibt war, erkrankte typisch. In der Leber konnten jedoch keine Spirochäten gefunden werden.

Auffallend sind die anfänglichen Ergebnisse mit dem alten Präparate, in dem die für Weilsche Krankheit typischen Veränderungen der Organe zum Teil ganz, zum Teil in wesentlichen Punkten (Ikterus) vermißt wurden.

Stibium colloidal.

I. Versuch. Toxizitätsversuch mit festem Präparat.

12. X. 1915. Meerschw. (190 g): 1:1000 — 2,5 ccm (0,0025) i.m. Befund 0.

Meerschw. (210 g): 1:100 — 1,0 ccm (0,01) i.m. Befund 0.

Meerschw.: 1:100 — 2,0 ccm (0,02) i.m. Befund 0.

Am 20. X. getötet. Befund 0.

II. Versuch.

1-proz. Lösung des festen Präparates; 0,5 g in 5,0 ccm dest. Wasser.

Die Meerschweinchen werden 2 Tage vor der Behandlung am 12. X. infiziert.

Meerschw. 4: 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 18. X. gelb. 19. X. †. Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 5: 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. 18. X. gelb. 19. X. bis 22. X. gelb. Ikterus geht zurück. 24. X. abgeblaßt.

15. XI. mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. nachgeimpft, immun! (s. oben p. 400).

Kontrollen unbehandelt:

Meerschw. 12) } beide gelb.
Meerschw. 13)

III. Versuch.

1-proz. Lösung des flüssigen Präparates in Ampullen (Heyden).

Die Meerschweinchen werden 1 Tag vor der Behandlung am 16. X. infiziert.

17. X. 1915. Meerschw. 54: 0,5 ccm i.m. 23. X. gelb. 24. X. †. Befund nicht ganz typisch. Lunge ohne Herde, ebenso Leber. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 55: 1,0 ccm i.m. 23. X. gelb. 24. X. †. Befund typisch. Spirochäten nicht untersucht.

IV. Versuch.

2-proz. Lösung des flüssigen Präparates in Ampullen (Heyden).

Am 22. X. 1 Uhr mittags werden Tiere infiziert mit Leberemulsion.

Meerschw. 132: 5⁴⁵ 1,0 ccm i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm i.m. 28. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 133: 5⁴⁵ 1,0 ccm i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm i.m. 30. X. †. Befund nicht typisch. Spir. (Leber) ?

Meerschw. 134: 5⁴⁵ 1,0 ccm i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm i.m. 29. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 135: 5⁴⁵ 1,0 ccm i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm i.m. 29. X. gelb. 30. X. †. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 136: 5⁴⁵ 1,0 ccm i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm i.m. 29. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 137: 5⁴⁵ 1,0 ccm i.m.

26. X. 1¹⁵ 1,0 ccm i.m. 29. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen:

1) Meerschw. }
2) Meerschw. } 28. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
3) Meerschw. }

- 4) Meersch. }
5) Meersch. } 28.—29. X. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
6) Meersch. }

V. Versuch.

2-proz. Lösung des flüssigen Präparates in Ampullen (Heyden).

Die Tiere sind 6 Stunden vor Einspritzung des Präparates mit 2 ccm Leberbrei i.p. infiziert.

Meersch. 357: 8. XI. 2,0 ccm (0,04) i.c.

10. XI. 2,0 ccm i.c.

12. XI. 2,0 ccm i.p. 13. XI. gelblich. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 358: 8. XI. 2,0 ccm i.m.

10. XI. 2,0 ccm i.m.

12. XI. 2,0 ccm i.p. 13. XI. gelb, krank. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 359: 8. XI. 2,0 ccm i.m.

10. XI. 2,0 ccm i.p.

12. XI. 2,0 ccm i.p. 13. XI. nicht gelb, sonst Befund typisch. Spir. (Leber) +.

VI. Versuch. Stibium colloidal (festes Präparat).

0,5 ccm + 5,0 ccm dest. Wasser, davon 1,0 ccm + 9,0 ccm dest. Wasser, davon 2,0 ccm.

Die Tiere sind 6 Stunden vor Einspritzung des Präparates mit 2 ccm Leberbrei i.p. infiziert.

Meersch. 360: 8. XI. 2,0 ccm (0,02) i.c.

10. XI. 2,0 ccm i.c.

12. XI. 2,0 ccm i.c. 15. XI. gelb? 16. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meersch. 361: 8. XI. 2,0 ccm (0,02) i.m.

10. XI. 2,0 ccm i.p.

12. XI. 2,0 ccm i.p. 13. XI. †, nicht deutlich gelb, sonst Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 362: 8. XI. 2,0 ccm (0,02) i.m.

10. XI. 2,0 ccm i.p.

12. XI. 2,0 ccm i.p. 13. XI. †, nicht deutlich gelb. Befund leichter Ikterus, sonst typisch. Spir. (Leber) +.

Kontrollen zu den chemotherapeutischen Versuchen vom 8. XI.

8. XI. 1) Meersch.: 13. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

2) Meersch.: 13. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

3) Meersch.: 14. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

4) Meersch.: 13. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

5) Meersch.: 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

6) Meersch.: 15. XI. gelb. 17. XI. †. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

7) Meersch.: 17. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Tabelle III. Stibium colloidal.

Datum	Bezeichnung des Versuchstieres	Menge des Mittels	Impfart	Infektion erfolgte vor	Krankheitsdauer in Tagen		Befund und Bemerkungen
					seit Infektion	seit letzter Behandl.	
12. X.	Meerschw. 1	0,0025	i.m.	Toxizitätsversuch			Keine Erscheinungen
12. X.	Meerschw. 2	0,01	"				
12. X.	Meerschw. 3	0,02	"				
14. X.	Meerschw. 4	0,01	"		2 Tagen	7	
14. X.	Meerschw. 5	0,01	"		2 "	6 gelb	
17. X.	Meerschw. 54	0,01	"	1 Tag	7	6	Befund typisch. Spir. + Nach 12 Tagen abgeblaßt. Am 15. XI. nachgeimpft, immun. Kontrollen der Versuche vom 14. X. typisch
17. X.	Meerschw. 55	0,02	"	1 "	7	6	Befund nicht typisch. Keine Lungenherde. Spir. +
22. X.	Meerschw. 132	0,02	"	5 Std.	6	6	Spirochäten nicht untersucht
		+0,02	"	4 Tagen	6	2	typisch. Spir. +
22. X.	Meerschw. 133	0,02	"	5 Std.	8	8	
		+0,02	"	4 Tagen	8	4	Befund nicht typisch. Spir. 0?
22. X.	Meerschw. 134	0,02	"	5 Std.	7	7	
		+0,02	"	4 Tagen	7	3	typisch. Spir. +
22. X.	Meerschw. 135	0,02	"	5 Std.	8	8	
		+0,02	"	4 Tagen	8	4	typisch. Spir. +
22. X.	Meerschw. 136	0,02	"	5 Std.	8	8	
		+0,02	"	4 Tagen	8	3	typisch. Spir. +
22. X.	Meerschw. 137	0,02	"	5 Std.	8	8	
		+0,02	"	4 Tagen	8	3	typisch. Spir. + 6 Kontrollen typ. Spir. + nach 4:6 Tagen 2:7 "
8. XI.	Meerschw. 357	0,04	i.c.	6 Std.	5	5	
		+0,04	"	2 Tagen	5	3	
		+0,04	i.p.	4 "	5	1	typisch. Spir. +
8. XI.	Meerschw. 358	0,04	i.m.	6 Std.	5	5	
		+0,04	"	2 Tagen	5	3	
		+0,04	i.p.	4 "	5	1	typisch. Spir. ++
8. XI.	Meerschw. 359	0,04	i.m.	6 Std.	5	5	
		+0,04	i.p.	2 Tagen	5	3	
		+0,04	"	4 "	5	1	nicht gelb, sonst typisch. Spir. +
8. XI.	Meerschw. 360	0,02	i.c.	6 Std.	8	8	
		+0,02	"	2 Tagen	8	6	
		+0,02	"	4 "	8	4	typisch. Spir. ++
8. XI.	Meerschw. 361	0,02	i.m.	6 Std.	5	5	
		+0,02	i.p.	2 Tagen	5	3	
		+0,02	"	4 "	5	1	schwach gelb, sonst typisch. Spir. +
8. XI.	Meerschw. 362	0,02	i.m.	6 Std.	5	5	
		+0,02	i.p.	2 Tagen	5	3	
		+0,02	"	4 "	5	1	leicht gelb, sonst typisch. Spir. + 7 Kontrollen der Versuche vom 8. XI. nach 7—9 Tagen † mit typischem Befunde. Spir. +

Ergebnis: Die Untersuchungsergebnisse sind in der Tabelle III zusammengestellt.

Es wurde sowohl das feste Präparat (Heyden) als auch die von der Firma Heyden zur Verfügung gestellte 2-proz. Lösung in Ampullen angewandt. Nennenswerte Unterschiede konnten nicht beobachtet werden.

Die Präparate wurden von den Tieren gut vertragen und zwar in Dosen von 0,04 intracardial 2mal mit 2-tägigen Abständen, desgleichen intraperitoneal und intramuskulär.

Ueber die therapeutischen Ergebnisse im Tierversuch ist folgendes zu sagen:

In einigen Fällen scheint ein gewisser Einfluß des Präparates auf den Krankheitsverlauf zu bestehen.

1. Fall. Meerschweinchen 5 am 14. X. 1915 mit 0,01 i.m. 2 Tage nach der Infektion behandelt. Das Tier zeigte nach 6 Tagen gelbe Skleren, die nach 12 Tagen abblaßten. Es trat völlige Genesung ein. Am 15. XI. wurde das Meerschweinchen mit 1 ccm Leberbrei nachgeimpft, ohne Krankheitserscheinungen zu zeigen. Am 24. XI., 7. XII. und 17. XII. fanden nochmalige Nachimpfungen mit Leberbrei statt. Auch hiernach keine Krankheitserscheinungen. Es kann mithin angenommen werden, daß das Virus durch die einmalige Behandlung mit 0,01 Stib. coll. so weit abgeschwächt wurde, daß es nur zu einem leichten, nicht letalen Krankheitsverlauf kam. Das Ueberstehen der Krankheit verlieh dem Tier eine weitgehende Immunität gegen eine neue Infektion (s. oben p. 400).

Das gleichzeitig und in der gleichen Weise geimpfte Meerschweinchen 4, ebenso wie 2 Kontrolltiere erkrankten nach der üblichen Zeit und ergaben einen typischen Befund.

2. Fall. Meerschweinchen 54 am 17. X., einen Tag nach der Infektion, mit 0,01 i.m. behandelt, starb nach 7 Tagen. Der Befund war nicht typisch. In den Lungen fehlten Blutungs-herde, die sonst als regelmäßiges Zeichen anzusehen sind. In der Leber wurden allerdings Spirochäten gefunden.

3. Fall. Meerschweinchen 55 am 17. X., einen Tag nach der Infektion, mit 0,02 i.m. gespritzt, starb ebenfalls nach 7 Tagen. Bei diesem Tiere konnten bei sonst charakteristischem Befunde in der Leber keine Spirochäten nachgewiesen werden.

4. Fall. Meerschweinchen 133 am 22. X. erhielt 5 Stunden und 4 Tage nach der Infektion je 0,02 ccm Stib. coll. Das Tier starb nach 8 Tagen. Die Sektion zeigte einen wenig typischen Befund. In der Leber fehlten Spirochäten.

5. Fall. Meerschweinchen 359 wurde am 8. XI. 3mal mit je 0,04 ccm i.m. und i.p. 6 Stunden, 2 bzw. 4 Tage nach der Infektion geimpft. Das Tier starb nach 5 Tagen, zeigte keine Spur von Ikterus, während der übrige Befund typisch war. Spir. +.

6. Fall. Meerschweinchen 361 und Meerschweinchen 362 waren in gleicher Weise behandelt wie Meerschweinchen 359. Auch diese Tiere zeigten bei sonst typischem Befund eine auffallend schwache Gelbfärbung. Spir. +.

Vorstehende Fälle zeigen somit einen vom typischen zum Teil auffallend abweichenden Sektionsbefund, der im Sinne eines heilenden Einflusses des Stibium colloidalе vielleicht aufgefaßt werden darf. Ein Tier überstand die Krankheit und erwies sich später als immun. Wenn die bisherigen Beobachtungen im Vergleich zu den zahlreicheren ohne den geringsten Einfluß behandelten Tiere auch vereinzelt und unsicher, vielleicht zufällige sind, so scheint das Antimon doch in erster Linie für weitere Versuche in Betracht zu kommen.

Argentum colloidalе.

Toxizitätsversuch.

12. X. 1915. 1) Meerschw. (240 g): 1-prom. Lösung 2,0 ccm (= 0,002) i.m., gesund.

2) Meerschw. (250 g): 1-proz. Lösung 1,5 ccm (= 0,015) i.m. 13. X. Infiltrat. 18. X. 0.

3) Meerschw. (190 g): 1:10—2,0 ccm (= 0,2) i.m. 13. X. Infiltrat. 15. X. 0.

Am 20. X. getötet. Ohne Befund.

Versuch I.

1-proz. Lösung aus 0,5 g in 5,0 ccm dest. Wasser.

2 Tage vor der Behandlung (am 12. X.) werden Tiere infiziert mit Organaufschwemmung i.p.

14. X. 1915. Meerschw. 6: 1,0 ccm i.m. 18. X. gelb. 21. X. †. Befund typisch. Spir. (Leber) 0!

Meerschw. 7: 1,0 ccm i.m., bleibt gesund.

15. XI. mit 2,0 ccm Leberbrei nachgeimpft, immun (s. oben p. 400).

Kontrollen:

Meerschw. 12: Nicht behandelt. 18. X. gelb. † Befund typisch.

Meerschw. 13: Nicht behandelt. 18. X. gelb. 20. X. †. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Versuch II.

Tiere am 16. X. infiziert.

17. X. Meerschw. 52: 2,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. (= 0,02).

22. X. gelb. 23. X. †. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 53: 1,0 ccm einer 1-proz. Lösung i.m. (= 0,01). 20. X. †. Ohne Befund.

Tabelle IV. Argentum colloidal.

Datum	Bezeichnung des Versuchstieres	Menge des Mittels	Impfart	Infektion erfolgte vor	Tot		Befund und Bemerkungen
					seit Infektion	seit Behandlung	
12. X.	Meerschw. a	0,002	i.m.	gesund 2 Tagen			Außer vorübergehendem Infiltrat keine Toxizitätserscheinungen Befund typisch. Spir. 0 Nachimpfung am 15. XI., gesund, immun Kontrolle nach 6–8 Tagen tot; typisch. Spir. 0
12. X.	Meerschw. b	0,015	"				
12. X.	Meerschw. c	0,2	"				
14. X.	Meerschw. 6	0,01	"		9 Tage	7 Tage	
14. X.	Meerschw. 7	0,01	"	2 "	bleibt	gesund!	
17. X.	Meerschw. 52	0,02	"	1 Tag	7 Tage	6 Tage	Befund typisch. Spir. +
17. X.	Meerschw. 53	0,01	"	1 "	4 "	3 "	kein Befund

Ergebnis: Ein Tier, das 2 Tage nach der Infektion mit 0,01 ccm Arg. coll. i.m. behandelt war, blieb gesund und erwies sich bei späteren Nachimpfungen (s. oben p. 400) als immun. Offenbar hatte das Tier eine leichte Infektion durchgemacht, durch die ihm Immunität verliehen wurde (vgl. Meerschweinchen bei Stib. colloid.-Behandlung). Bei einem anderen Meerschweinchen fehlten bei sonst typischem Sektionsbefund Spirochäten in der Leber.

Soweit bei der geringen Zahl der Versuche ein Urteil möglich ist, dürfte das Argentum colloidal in ähnlicher Weise wie das Stibium colloidal zu weiteren Versuchen in Betracht kommen.

Collargol.

1,0 g + 10,0 ccm dest. Wasser, davon 1,0 + 9,0 dest. Wasser, davon 2,0 ccm.

Behandlung erfolgte 6 Stunden nach der Infektion.

8. XI. 1915. Meersch. 363: 8. XI. 2,0 ccm (0,02) i.c.

10. XI. 2,0 ccm i.c. 11. XI. †, o. B.

Meersch. 364: 8. XI. 2,0 ccm i.m., stark infiltriert.

10. XI. 2,0 ccm i.p.

12. XI. 2,0 ccm i.p. 14. XI. †, gelb. Befund typisch. Spir. ?

Meersch. 365: 8. XI. 2,0 ccm i.m., stark infiltriert.

10. XI. 2,0 ccm i.m. Stark infiltriert.

12. XI. 1,0 ccm i.p. 13. XI. gelb. † Befund typisch (peritonitische Schwarten). Spir. (Leber) ++.

Tabelle V. Argentum colloidal.

Datum	Bezeichnung des Versuchstieres	Menge des Mittels	Impfart	Infektion erfolgte vor	Krankheitsdauer in Tagen		Befund und Bemerkungen
					seit Infektion	seit letzter Behandl.	
8. XI.	Meersch. 363	0,02	i.c.	6 Std.	3	3	Befund o. B.
		+ 0,02	„	2 Tagen	3	1	
8. XI.	Meersch. 364	0,02	i.m.	6 Std.	6	6	typisch. Spir. fraglich
		+ 0,02	i.p.	2 Tagen	6	4	
		+ 0,02	„	4 „	6	2	
8. XI.	Meersch. 365	0,02	i.m.	6 Std.	5	5	
		+ 0,02	„	2 Tagen	5	3	typisch. Spir. ++
		+ 0,02	i.p.	4 „	5	1	

7 Kontrollen nach 7—9 Tagen tot, mit typischem Befund. Spir. +.

Ergebnis: Collargol, 3mal zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion in Mengen von 0,02 ccm verabreicht, zeigte keinen Einfluß auf den Verlauf der Krankheit.

Argentum atoxylicum.

I. In dest. Wasser aufgeschwemmt. Toxizitätsversuch.

12. X. 1) Meersch. (230 g): 0,02 ccm i.m., gesund.

2) Meersch. (230 g): 0,05 ccm i.m., gesund.

3) Meersch. (210 g): 0,1 ccm. † 13. X. starkes Infiltrat an der Impfstelle.

Am 20. X. getötet. 0.

II. 0,5 g in 10,0 ccm dest. Wasser Aufschwemmung, davon 1,0 ccm.
Die Tiere werden 6 Stunden vor der Behandlung infiziert.

Meersch. 375: 8. XI. 1,0 ccm (0,05) i.p.

10. XI. 1,0 ccm i.p.

12. XI. 1,0 ccm i.p. 13. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 376: 8. XI. 1,0 ccm i.m.

10. XI. 1,0 ccm i.p.

12. XI. 1,0 ccm i.p.

15. XI. gelb. 16. XI. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meersch. 377: 8. XI. 1,0 ccm i.m.

10. XI. 1,0 ccm i.m.

12. XI. 1,0 ccm i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Tabelle VI. Argentum atoxylicum.

Datum	Bezeichnung des Versuchs- tieres	Menge des Mittels	Impf- art	Infek- tion erfolgte vor	Krankheits- dauer in Tagen		Befund und Bemerkungen
					seit Infek- tion	seit letzter Behandl.	
12. X.	Meersch. a	0,02	i.m.	} ge- sund			
12. X.	Meersch. b	0,05	"				
12. X.	Meersch. c	0,1	"				
8. XI.	Meersch. 375	0,05	i.p.	6 Std.	5	5	am 13. X. tot unter Vergiftungs- erscheinungen
		+ 0,05	"	2 Tagen	5	3	
		+ 0,05	"	4 "	5	1	
8. XI.	Meersch. 376	0,05	i.m.	6 Std.	8	8	typisch. Spir. +
		+ 0,05	i.p.	2 Tagen	8	6	
		+ 0,05	"	4 "	8	4	typisch. Spir. +
8. XI.	Meersch. 377	0,05	i.m.	6 Std.	7	7	
		+ 0,05	"	2 Tagen	7	5	
		+ 0,05	i.p.	4 "	7	3	typisch. Spir. +

7 Kontrollen nach 7—9 Tagen tot; gelb.

Dosis tolerata liegt unter 0,1 g bei intramuskulärer Einspritzung.

Ergebnis: In den Versuchen wurden 0,05 mehrmals zum Teil intramuskulär, zum Teil intraperitoneal gegeben. Eine Heilwirkung konnte nicht festgestellt werden.

Hydrargyrum atoxylicum.

0,5 g + 10,0 ccm dest. Wasser: Aufschwemmung; davon 1,0 ccm = 0,05. Infektion erfolgte 6 Stunden vor der Behandlung.

Meersch. 372: 8. XI. 1,0 ccm i.p.

10. XI. 1,0 ccm i.p. 12. XI. †, ohne Befund. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 373: 8. XI. 1,0 ccm i.m.

10. XI. 1,0 ccm i.m.

12. XI. 1,0 ccm i.p. 13. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 374: 8. XI. 1,0 ccm i.m.

10. XI. 1,0 ccm i.p.

12. XI. 1,0 ccm i.p. 14. XI. †. Peritonitis; kein Ikterus. Spir. 0.

Tabelle VII. Hydrargyrum atoxylicum.

Datum	Bezeichnung des Versuchstieres	Menge des Mittels	Impfart	Infektion vor	Tot		Befund und Bemerkungen
					seit Infektion	seit Behandlung	
8. XI.	Meerschw. 372	0,05	i.p.	6 Std.	4 Tage	4 Tage	† ohne Befund, Spir. 0
		+ 0,05	"	2 Tagen	4 "	2 "	
8. XI.	Meerschw. 373	0,05	i.m.	6 Std.	5 Tage	5 Tage	typisch, Spir. +
		+ 0,05	"	2 Tagen	5 "	3 "	
		+ 0,05	i.p.	4 "	5 "	1 Tag	
8. XI.	Meerschw. 374	0,05	i.m.	6 Std.	6 Tage	6 Tage	Peritonitis; für Weil negativer Befund. Spir. 0
		+ 0,05	i.p.	2 Tagen	6 "	4 "	
		+ 0,05	"	4 "	6 "	2 "	

7 Kontrollen nach 7—9 Tagen tot, mit typischem Befund. Spir. +.

Ergebnis: Bei intraperitonealer Verimpfung von 0,05 g gehen Meerschweinchen leicht an Peritonitis zugrunde.

Eine einwandfreie Heilwirkung zeigte die Behandlung mit Hydrargyrum atoxylicum nicht.

Optochin (Morgenroth).

Inhalt von 4 Kapseln (1 Kapsel = 0,15 Optochin) mit 9,0 dest. Wasser im Mörser verrieben und eingespritzt. Behandlung erfolgt 6 Stunden nach der Infektion.

Meerschw. 369: 8. XI. 2,25 ccm (= 0,15) i.p. 9. XI. † o. B.

Meerschw. 370: 8. XI. 2,25 ccm i.m.

10. XI. 2,25 ccm i.m.

12. XI. 1,15 ccm i.p. 13. XI. gelb? † Befund typisch. Starke mesenterielle Blutung. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 371: 8. XI. 2,25 ccm i.m., infiltriert.

10. XI. 1,125 ccm i.m.

12. XI. 2,25 ccm i.p. 13. XI. nicht gelb, retroperitoneale Blutungen. Verdickung des Peritoneums, kein für Ikterus typischer Befund.

Tabelle VIII. Optochin.

Datum	Bezeichnung des Versuchstieres	Menge des Mittels	Impfart	Infektion erfolgte vor	Krankheitsdauer in Tagen		Befund und Bemerkungen
					seit Infektion	seit letzter Behandl.	
8. XI.	Meerschw. 369	0,15	i.p.	6 Std.	1	1	o. B.
8. XI.	Meerschw. 370	0,15	i.m.	6 Std.	5	5	
		+ 0,15	„	2 Tagen	5	3	typisch, Spir. +
		+ 0,075	i.p.	4 „	5	1	
8. XI.	Meerschw. 371	0,15	i.m.	6 Std.	5	5	nicht gelb. Retroperitoneale Blutungen, Verdickung des Peritoneums, sonst für Ikterus atypischer Befund. Spir. + ?
		+ 0,075	„	2 Tagen	5	3	
		+ 0,15	i.p.	4 „	5	1	

7 Kontrollen nach 7–9 Tagen tot, mit typischem Befund.

Ergebnis: Mit Optochin (Morgenroth) konnten somit Heilerfolge nicht erzielt werden.

Die Versuche über Chemotherapie der Weilschen Krankheit haben also zu endgültigen Ergebnissen noch nicht geführt. Sie berechtigen aber zu der Hoffnung, daß es gelingen wird, brauchbare Heilpräparate zu finden.

Epidemiologie und Bekämpfung.

In epidemiologischer Beziehung haben unsere Untersuchungen bisher positive Anhaltspunkte für die unter natürlichen Verhältnissen stattfindende Art der Uebertragung der Krankheit noch nicht ergeben. Die wahrscheinlichste Annahme, daß bei der Uebertragung der Krankheit Zwischenträger, vor allem Insekten (Stechfliegen, Mücken etc.) eine Rolle spielen, konnte durch tatsächliche Beobachtungen von uns bisher nicht gestützt werden, doch konnten aus äußeren Gründen hierüber eingehende systematische Untersuchungen bisher nicht durchgeführt werden. Einspritzungen von zerriebenen Mücken, die in einer verseuchten Gegend gefangen waren, hatten ein negatives Ergebnis. Auffallend war, daß auch in der kalten

Jahreszeit die Erkrankungen nicht nachgelassen haben. Von 71 vom Juli 1915 bis Februar 1916 beobachteten Fällen fielen auf

Juli	1	November	9
August	1	Dezember	15
September	15	Januar	9
Oktober	21		

Diese Tatsache spricht nicht gerade für die Mückentheorie, wenn auch nicht dagegen, da in den Unterständen etc. Insekten überwintern. Auch waren die Fälle sehr zerstreut: die 71 Fälle verteilen sich auf 41 Formationen. Bis zu 3 Fällen hatten 39 Formationen, 1 Regiment 6, ein anderes 13 Fälle. Direkte Kontaktinfektionen von Mensch zu Mensch konnten bisher nicht beobachtet werden, doch wurden Kontaktinfektionen von Meerschweinchen zu Meerschweinchen im Seuchentstall festgestellt. Es scheint das aber sehr selten vorzukommen. Da durch den Urin, durch die Faeces und das Augensekret das Virus in die Außenwelt gelangt und durch die unverletzte Augenschleimhaut und verletzte Haut — auch per os — eine Infektion möglich ist, ist diese Art der Uebertragung erklärlich. Immerhin könnte man auch hier an Zwischenträger (Stechfliegen, Mücken, Flöhe, Läuse) denken. Von an Ikterus gestorbenen Meerschweinchen abgesuchte Läuse erwiesen sich, nach Verreibung gesunden Meerschweinchen eingespritzt, nicht als infektiös. Da das Virus gegen äußere Einflüsse wenig widerstandsfähig ist, geht es in der Außenwelt verhältnismäßig schnell zugrunde. Beim Menschen haben wir 2 Laboratoriumsinfektionen beobachtet, die durch Virusblut von der Augenschleimhaut resp. der verletzten Haut zustande kamen. Das ist wenigstens die durch objektive Beobachtung festgestellte Annahme. Für Zwischenträger sprach in diesem Falle nichts.

Im Anhang (s. p. 481) haben wir einen Fragebogen abgedruckt, der bei jedem Fall von Weilscher Krankheit ausgefüllt wird. Diese Fragebogen werden uns vielleicht weiteres Material für die Beurteilung der epidemiologischen Verhältnisse an die Hand geben.

Somit steht fest, daß bei Laboratoriumsarbeiten mit der größten Vorsicht verfahren werden muß. Es sollten beim Hantieren mit kranken Tieren oder infektiösem Material stets Gummihandschuhe getragen werden, denn die Gefahr der Uebertragung erscheint hier ebenso groß wie bei Recurrens.

Was die Bekämpfung der Weilschen Krankheit betrifft, so müssen alle Krankheitsfälle isoliert werden. Bis die Frage nach der Rolle der Zwischenträger entschieden ist, ist es ratsam, die Krankenzimmer mücken-(fliegen-)sicher abzuschließen. Die Desinfektion des Urins und des Stuhlganges erscheint notwendig.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1) Der infektiöse Ikterus (Weilsche Krankheit) ist auf Meerschweinchen übertragbar.

2) Affen, Ratten, Mäuse, Hunde, Katzen, Ferkel, Hammel, Esel, Hühner haben sich in unseren Versuchen als unempfindlich erwiesen. Kaninchen zeigen bisweilen eine geringe Empfänglichkeit.

3) Meerschweinchen erkranken unter typischen Erscheinungen des Ikterus und gehen so gut wie regelmäßig an der Krankheit zugrunde. Der Sektionsbefund ist äußerst charakteristisch und dem beim Menschen beobachteten ähnlich.

4) Das zur Impfung (intraperitoneal, intracardial, subkutan, intramuskulär) der Meerschweinchen zu verwendende menschliche Blut ist besonders in der ersten Woche der Krankheit infektiös. Aber auch mit solchem Material gelingt die Infektion nicht regelmäßig. In späteren Stadien der Krankheit und im Rezidiv ist das Blut anscheinend nicht mehr infektiös. Auch mit Leichenmaterial konnte bisher eine Infektion nicht erzielt werden.

5) Auch mit Urin kranker Menschen gelingt es vielfach, Tiere zu infizieren. Bisweilen sind Urin und Blut infektiös. In einigen Fällen, in denen das Blut infektiös war, enthielt der Urin kein Virus und umgekehrt.

6) Das Virus läßt sich in Passagen von Meerschweinchen zu Meerschweinchen weiterimpfen. Daraus schlossen wir, daß es sich um ein vermehrungsfähiges Virus handelt.

7) Unsere negativen Filtratversuche (Berkefeldfilter) bewiesen uns, daß es sich nicht um ein filtrierbares oder ultra-visibles Virus handelt.

8) Bei der mikroskopischen Untersuchung der infolge der Infektion mit Blut (Urin) von kranken Menschen

oder Meerschweinchen zugrunde gegangenen Meerschweinchen fanden wir regelmäßig, besonders in der Leber, Spirochäten. In normalen und in an anderen Krankheiten zugrunde gegangenen Meerschweinchen, sowie auch in solchen, die mit dem Blute normaler oder an verschiedenen anderen Krankheiten leidender Menschen eingespritzt und nach gewisser Zeit getötet worden waren, fanden sich niemals Spirochäten.

9) Die von uns gefundene Spirochäte ist als Erreger der Weilschen Krankheit anzusehen und wird von uns „Spirochäte der Weilschen Krankheit“ oder „Spirochaete icterogenes“ (Uhlenhuth-Fromme) genannt¹⁾.

10) Der Nachweis der Spirochäten in den an der Krankheit zugrunde gegangenen Meerschweinchen ist durch Giemsa-Färbung, besonders in der Leber, leicht zu führen. In der Leber reichern sich die Spirochäten an. Auch im Blut, in den Nieren, in der Gallenblase und anderen Organen haben wir Spirochäten mikroskopisch nachgewiesen. Auch im Dunkelfeld von Leberaufschwemmungen sieht man wurmartig sich bewegende, lebende Spirochäten.

11) Im Blut kranker Menschen ist uns der mikroskopische Nachweis bisher mit Sicherheit nicht geglückt, wohl aber in der Leber (Levaditi) an der Weilschen Krankheit gestorbener Menschen. Offenbar kreist das Virus im menschlichen Blute nur in der ersten Zeit der Krankheit und in geringer Menge. Auch bei der Leberpunktion kranker Menschen hatten wir kein eindeutiges mikroskopisches Ergebnis. Beim Menschen führt vorläufig nur der Tierversuch zum einwandfreien Ergebnis²⁾.

12) Impft man Meerschweinchen mit virushaltigem Material und tötet sie nach bestimmten Zeiten, so kann man in der Leber mikroskopisch 3 Tage nach der Infektion Spirochäten nachweisen, zu einer Zeit, wo die Tiere anfangen, krank zu werden. Auch durch Leberpunktion haben wir sie am 5. Tage beim lebenden Tiere nachweisen können. Durch den Tierversuch gelingt es, schon 7 Stunden nach der Infektion mit Leberaufschwemmung Tiere zu infizieren und Spirochäten in diesen Tieren nachzuweisen. Die Untersuchung des Blutes

1) Begründung s. unten p. 444 ff.

2) Ueber die direkte Kultur vom Menschen auf künstlichen Nährböden sind Untersuchungen im Gange.

derartig infizierter Tiere (Ohrvenenblut) ergibt 4 Tage nach der Infektion positive mikroskopische Befunde. Durch den Tierversuch kann schon am 1. Tage nach der Infektion das Virus nachgewiesen werden.

13) Durch den Tierversuch konnte das Virus — außer im Blut, Urin, der Galle, in den Faeces und im Augensekret (Hertel) — in allen Organen des Meerschweinchens mit Ausnahme der Linse nachgewiesen werden. Am schnellsten erkrankten die mit Lebermaterial geimpften Tiere.

14) Die Weilsche Krankheit beim Meerschweinchen — sowie beim Menschen — ist als eine Septikämie zu betrachten.

15) Wieviel Virus genügt zur Infektion beim Meerschweinchen? Vergleichende quantitative Untersuchungen bei intraperitonealer Einspritzung ergaben, daß gewaschene Blutkörperchen und Serum von Meerschweinchen in gleicher Weise bis herab zu einer Dosis von 0,001 ccm infektiös sind, stärkere Verdünnungen wurden nicht geprüft. Offenbar genügen minimale Dosen zur Infektion. Durch massive Dosen konnte die Inkubationszeit nicht verkürzt werden.

16) Infektionswege. Die sicherste Art der künstlichen Infektion von Meerschweinchen ist die intracardiale Einspritzung von 1,0—2,0 ccm Virusblut. Auch die intraperitoneale Einspritzung führt zum Ziele, jedoch erkrankten die Tiere später als nach der intracardialen Impfung. Bisweilen sind die intraperitoneal geimpften Tiere gesund geblieben, während die mit der gleichen Menge des gleichen Virus intracardial geimpften Tiere erkrankten. Diese Beobachtung wurde besonders bei primären Verimpfungen menschlichen Blutes gemacht. Die subkutane und intramuskuläre Einspritzung sind nicht ganz so zuverlässig. Für die direkte Verimpfung menschlichen Materials ist die intracardiale Methode unter allen Umständen als die sicherste zu empfehlen. Für die Weiterimpfung von Virusblut auf Meerschweinchen empfehlen wir, ein Tier intracardial (1,5 ccm) und ein Tier intraperitoneal (2,0 ccm) einzuspritzen. Bei Lebermaterial von Meerschweinchen ist die intraperitoneale Einspritzung von 1,0 ccm am zweckmäßigsten, da bei intracardialer Impfung mit Organmaterial die Tiere leicht eingehen. Infektionen per os (Schlundsonde) waren in einem Falle positiv. Einträufelung von Virusblut in die unverletzte Conjunctivalschleimhaut und die skarifizierte

Bauchhaut hatten ein positives Ergebnis. Einreibungen in die unverletzte Bauchhaut verliefen negativ. Der Stich einer mit Virusblut infizierten Kanüle in die Herzgegend sowie Einstich einer mit Virusblut infizierten Nadel führten zu Infektionen. Dies Ergebnis ist für die Frage etwaiger Zwischenträger von Bedeutung. Natürliche Infektion im Seuchenstall haben wir einmal beobachtet. Jedoch scheint dieser Infektionsweg sehr selten vorzukommen. Da das Virus mit dem Urin, den Faeces und dem Augensekret ausgeschieden wird, ist ein derartiger Infektionsmodus wohl erklärlich. Beim Menschen haben wir direkte Kontaktinfektionen nicht beobachtet, doch konnten wir 2 Laboratoriumsinfektionen feststellen. Das Blut dieser Leute, auf Meerschweinchen verimpft, erzeugte typischen Ikterus mit positivem Spirochätenbefund. Die Infektion erfolgte höchstwahrscheinlich durch virushaltiges Meerschweinchenblut, das dem einen dieser Leute in die Augen spritzte, bei dem anderen wahrscheinlich durch die spröde Haut der Hände eindrang.

17) Immunität. Menschen, die die Weilsche Krankheit überstanden haben, haben in ihrem Serum hochwertige Schutzstoffe; derartiges Serum schützt eventuell bis 0,001 ccm gegen 1,0 ccm Virusblut (Mischungsversuch). Im Serum von gesunden und an anderen Krankheiten leidenden Menschen sind Schutzstoffe nicht nachgewiesen worden. Die Weil-Rekonvaleszenten erfreuen sich daher einer ausgesprochenen Immunität. Die Schutzstoffe bilden sich während der Krankheit, wie wir in besonderen Versuchen feststellen konnten. Die Antikörper waren noch nach 7 Monaten ungeschwächt nachweisbar, in einem Falle bis herab zur Dosis 0,1 ccm, im anderen Falle bis 0,01 ccm. Nach ca. 1 Jahr war eine geringe Abschwächung eingetreten. Durch Einspritzung von 1,0—2,0 ccm Rekonvaleszenten serum können Meerschweinchen noch 3 Tage nach der Infektion mit 2,0 ccm Leberbrei gegen den Ausbruch der Krankheit geschützt werden. Das Serum hat also deutliche Heil- resp. Schutzwirkung gezeigt. Tiere, die schon äußerlich krank, bzw. gelb sind (4.—5. Tag), können nicht mehr gerettet werden, jedoch verschwinden die Spirochäten in der Regel nach der Einspritzung aus der Leber. Diese Reaktion ist spezifisch, wie das Pfeiffersche Phänomen bei der Cholera. Werden Meerschweinchen mit 2,0 ccm Rekon-

valeszentenserum gespritzt, so schützt diese Menge in der Regel gegen eine 6—7 Tage später erfolgende Infektion mit 2,0 ccm Leberbrei.

18) Weilkranke Menschen können mit Vorteil mit Rekonvaleszentenserum behandelt werden, jedoch muß wie beim Meerschweinchen die Einspritzung möglichst früh erfolgen. Diese Behandlung mit Rekonvaleszentenserum ist jedoch zunächst nur ein Notbehelf, immerhin aber von praktischer Bedeutung, wie unsere Erfahrungen lehren. Es muß weiterhin das Bestreben sein, von größeren Tieren (Pferden, Eseln, Hammeln, Ziegen) hochwertige Sera zu erhalten, was nach Ueberwindung einiger technischen Schwierigkeiten durchaus möglich erscheint; Hammel und besonders Kaninchen haben bereits zum Teil sehr brauchbare Sera (0,001 Kaninchenserum) geliefert. Damit ist die experimentelle Grundlage gegeben für eine spezifische Serumtherapie.

19) Von Haus aus immune Meerschweinchen sind äußerst selten. Einige Tiere, die bei subkutaner resp. intramuskulärer Einspritzung scheinbar gesund blieben, während die mit derselben Menge des gleichen Virus gespritzten Tiere erkrankten, erwiesen sich bei der Nachimpfung als immun. Es ist anzunehmen, daß diese Tiere eine latente Infektion durchgemacht haben und dadurch immun geworden sind. Auch mehrere Tiere, die nach chemotherapeutischer Behandlung eine leichte Infektion durchgemacht haben, sind bei der Nachimpfung mit hochvirulentem Material nicht erkrankt. Meerschweinchen, die mehrmals mit großen Dosen von angetrocknetem Blut vorbehandelt und nicht erkrankt waren, sind bei der Nachimpfung typisch erkrankt und zugrunde gegangen. Ebenso sind die Tiere, die mit durch chemische Mittel abgetötetem Virus vorbehandelt (1mal) waren, bei der Nachimpfung erkrankt. Die künstliche aktive Immunisierung scheint daher sehr schwierig zu sein; mit abgetötetem Material gelingt sie wahrscheinlich überhaupt nicht.

20) In allen zweifelhaften Fällen empfiehlt es sich, den Tierversuch zur Diagnose heranzuziehen. Es kommt in Betracht: 1) Verimpfung von defibriniertem Blut aus dem Beginn der Erkrankung, 2) Titration des Rekonvaleszentenserums nach dem Ueberstehen der Erkrankung zum Nachweis spezi-

fischer Antikörper. Auf diesem Wege konnten wir 2 Fälle, die ohne Ikterus verliefen und die sonst sicher nicht als Weilsche Krankheit erkannt wären, diagnostizieren. Es ist klar, daß nur der positive Ausfall der Tierimpfung beweisend ist, der negative Ausfall spricht nicht gegen die Weilsche Krankheit. Der Nachweis hochwertiger Antikörper dürfte nach den bisherigen Beobachtungen die Diagnose nachträglich sichern.

21) Widerstandsfähigkeit des Virus gegen äußere Einflüsse. 7 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Virusblut erwies sich noch als virulent. Längere Zeiten wurden nicht geprüft. Antrocknung bei 37° im Brutschrank machten in 3 Stunden das Virus avirulent. Das Virus wurde in Petrischalen in dünner Schicht antrocknet. Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur war die Abtötung des Virus durch Eintrocknung in 10 Stunden erfolgt. Kürzere Zeiten wurden nicht geprüft. Flüssiges Blut, in Reagenzröhrchen bei 37° 20 Stunden aufgestellt, war noch virulent. Erhitzung auf 50° bzw. 55° tötete das Virus in wenigstens 1/2 Stunde ab. Bei einer der Fäulnis ausgesetzten Leber waren Spirochäten mikroskopisch noch nach 3 Tagen nachweisbar. Der Tierversuch war nach 24 Stunden positiv, nach 5 Tagen trat keine Erkrankung der geimpften Meerschweinchen ein. Versuche, auch den Einfluß der Kälte auf das Virus zu studieren, verliefen bisher resultatlos.

22) Widerstandsfähigkeit des Virus gegen chemische Einflüsse. Destilliertes Wasser und Natrium citricum-Lösungen, zu gleichen Teilen virushaltigem Meerschweinchenblut zugesetzt, haben in 24 Stunden keine schädigende Wirkung auf das Virus ausgeübt. Rinder-galle (1:1) tötete das Virus ab. 1-proz. Kresolseifen-lösung und 1-proz. Karbollösung (1:1) töteten das Virus in 1/2 Stunde ab, kürzere Zeiten wurden nicht geprüft. Sublimat (1:1) tötete in Lösungen von 0,05, 0,1, 0,5 Proz. in 2 Stunden das Virus nicht ab. In einem Falle genügte 0,4 Proz. zur Abtötung. Antiforminlösungen (1:1) von 0,1, 1 und 10 Proz. erzielten keine vollständige Abtötung des Virus. Diese Tatsache spricht nicht etwa für eine Antiforminresistenz der Spirochäten, sondern beweist nur, daß die Antiforminlösungen im defibrinierten Blute mehr oder weniger unwirksam sind.

Bei der 5- und 10-proz. Lösung ist eine Verzögerung des Krankheitsverlaufes und bei der 10-proz. in einem Falle das Gesundbleiben eines Tieres beobachtet worden. Bei Anwendung der 20-proz. Antiforminlösung (1:1) findet eine Zerstörung der Spirochäten statt. Aether (1:1), den gleichen Mengen Virusblutes zugesetzt, vernichtet das Virus innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde.

Alle diese Versuche beweisen, daß das Virus der Weilschen Krankheit gegen äußere Einflüsse verhältnismäßig wenig widerstandsfähig ist, und daß man mit den gebräuchlichen Desinfektionsmitteln (Kresolseifenlösung, Karbolsäure) schon in geringer Konzentration eine Abtötung des Virus erzielen kann, was für die Praxis von Bedeutung ist.

23) Chemotherapie. Es wurden geprüft: Neosalvarsan, Stibium colloïdale, Argentum colloïdale, Hydrargyrum atoxylicum, Argentum atoxylicum, Atoxyl, Collargol, Optochin (Morgenroth). Auffallenderweise haben das Neosalvarsan und Atoxyl einen heilenden Einfluß auf die Weilsche Krankheit des Meerschweinchens nicht erkennen lassen, auch sind die Spirochäten infolge der Einspritzung nicht verschwunden. Beim Menschen hat das Neosalvarsan ebenfalls versagt. Stibium colloïdale und Argentum colloïdale haben eine gewisse Wirkung erkennen lassen; jedoch ist die Zahl der Versuche noch zu gering, um definitive Schlüsse daraus zu ziehen. Jedenfalls ermutigen sie dazu, die Versuche weiter fortzusetzen.

24) In epidemiologischer Beziehung haben unsere Versuche bisher wenig Anhaltspunkte ergeben. Die Annahme, daß bei der Uebertragung der Weilschen Krankheit Zwischenträger, vor allen Dingen Insekten (Stechfliegen, Mücken etc.), eine Rolle spielen, ist wohl die wahrscheinlichste, konnte aber durch tatsächliche Beobachtungen bisher nicht gestützt werden. Eine gewisse Beziehung zu Wasseransammlungen scheint zu bestehen. Direkte Kontaktinfektionen von Mensch zu Mensch haben wir nicht beobachten können, wohl aber von Meerschweinchen zu Meerschweinchen im Seuchenstall. Ueber die Laboratoriumsinfektionen ist oben berichtet (No. 16).

25) Bei den Laboratoriumsarbeiten ist besondere Vorsicht zu beobachten (Gummihandschuhe). Die

Gefahr der Infektion scheint hier ebenso groß zu sein wie bei Recurrens.

26) Die allgemeinen Maßnahmen zur Bekämpfung der Weilschen Krankheit haben den für Seuchen gültigen Grundsätzen zu entsprechen. Alle auf Weilsche Krankheit verdächtigen Fälle sind Beobachtungsstationen zuzuführen, von wo sie nach Feststellung der Krankheit den Seuchenabteilungen überwiesen werden. Die Anwendung der Desinfektion ist dieselbe wie beim Typhus, wobei ganz besonders auf die Infektiosität des Urins zu achten ist. Von einer Absonderung der Umgebung dürfte abzusehen sein.

Beweise für die Erregernatur der „Spirochäte der Weilschen Krankheit“ (*Spirochaete icterogenes*).

1) Die Spirochäten konnten regelmäßig in den nach Verimpfung von Blut Weil-kranker Menschen an den Erscheinungen des Ikterus eingegangenen Meerschweinchen nachgewiesen werden. Normale Meerschweinchen und solche, die an anderen Krankheiten gestorben waren, zeigten keine Spirochäten, auch nicht die Meerschweinchen, die mit dem Blute normaler Menschen oder dem an anderen Krankheiten leidender Menschen gespritzt waren und nach gewissen Zeiten getötet wurden.

Die Spirochäten konnten mikroskopisch oder durch den Tierversuch in sämtlichen Organen, besonders in der Leber, mit Ausnahme der Linse nachgewiesen werden. Mit dem Fortschreiten der Krankheit findet auch eine Anreicherung der Spirochäten in der Leber statt.

2) Auch in der Leber an der Krankheit zugrunde gegangener Menschen wurden die Spirochäten nachgewiesen.

3) Es wurden 2 Laboratoriumsinfektionen beobachtet bei Leuten, die lediglich mit dem Virus kranker Meerschweinchen zu tun hatten. Das Blut dieser Leute hat bei Meerschweinchen Ikterus mit typischem Spirochätenbefund erzeugt (s. oben). Auch eine Spontaninfektion im Seuchentall ist bei Meerschweinchen beobachtet. Die natürlich infizierten Tiere hatten wiederum positiven Spirochätenbefund.

4) Das Serum von Menschen, die die Weilsche Krankheit überstanden haben, zeigt hochwertige spezifische Schutz-

stoffe gegenüber den Spirochäten. Diese Schutzstoffe sind zur Behandlung ikteruskranker Meerschweinchen und Menschen mit Vorteil zu verwenden. Meerschweinchen, die mit spirochätenhaltigem Material infiziert waren, können bis 3 Tage nach der Infektion durch die Einspritzung des Rekonvaleszentenserums gerettet werden.

5) Im letzten Stadium der Erkrankung, wenn die Tiere schon gelb sind, werden sie durch Einspritzung des Rekonvaleszentenserums nicht mehr gerettet, was bei den schweren Organveränderungen (s. oben p. 322) ohne weiteres erklärlich ist. Wohl aber verschwinden die Spirochäten aus der Leber, wie man mikroskopisch feststellen kann. Diese Reaktion ist absolut spezifisch, wie das Pfeiffersche Phänomen bei der Cholera.

6) Es gelingt — in Bestätigung der Befunde von Ungermann — mit der Reinkultur der Spirochäten bei Meerschweinchen wiederum das typische Bild der Weilschen Krankheit zu erzeugen¹⁾.

1) Am 1. März 1916 erschien in New York in dem vom Rockefeller-Institut herausgegebenen Journal of experimental Medicine, Vol. 23, No. 3, eine Arbeit japanischer Autoren (Inada, Ido, Hoki, Kaneko, Yto) über ansteckende Gelbsucht in Japan, nachdem unsere Arbeiten (Uhlenhuth und Fromme) in der Mediz. Klinik, 1915, No. 44, 46, 47, 50, ferner in der Berliner klin. Wochenschr., 1916, No. 11, publiziert waren. Wir haben bereits an anderer Stelle Gelegenheit genommen, auf die interessanten Arbeiten der Japaner hinzuweisen (Festschrift für O. Madelung: „Beiträge zur klinischen Chirurgie“).

Die Befunde der Japaner, die bereits im Anfang und im Laufe des Jahres 1915 in der uns begreiflicher Weise in dieser Zeit nicht zugängigen japanischen Literatur — in mehreren Einzelmitteilungen — bekanntgegeben sind, haben mit den unserigen eine auffallende Ähnlichkeit, wenn sie auch in einigen Punkten davon abweichen. Ob nun die in Japan beobachtete „Weilsche Krankheit“ mit der europäischen identisch ist, läßt sich — auch nach den Angaben der Japaner — noch nicht mit Bestimmtheit behaupten, da sich klinisch einige Differenzen nachweisen lassen. Um das zu entscheiden, sind vergleichende Untersuchungen über die in Japan und Deutschland gefundenen Erreger (Spirochäten) notwendig. Es könnte sich zum mindesten — wie bei Recurrens — um verschiedene Krankheitsformen handeln. (S. auch Korrespondenzbl. f. Schweizer Aerzte, 1916, No. 32, Referat, und unsere Bemerkungen dazu Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 37).

Anhang.

Im Tierversuch positive Fälle ¹⁾.

Fall Thi. (siehe Stammbaum p. 479).

Beginn etwa am 27. X. 1915 mit Frösteln und Gliederschmerzen, Schluckbeschwerden. Lazarettaufnahme am 30. X. wegen Typhusverdachts. Befund: Conjunctivitis, Skleren leicht gelb, Milz druckempfindlich, desgleichen linkes Knie. Waden stark schmerzempfindlich.

3. XI. Ikterus deutlich, große Mattigkeit. Blut zur Impfung entnommen.

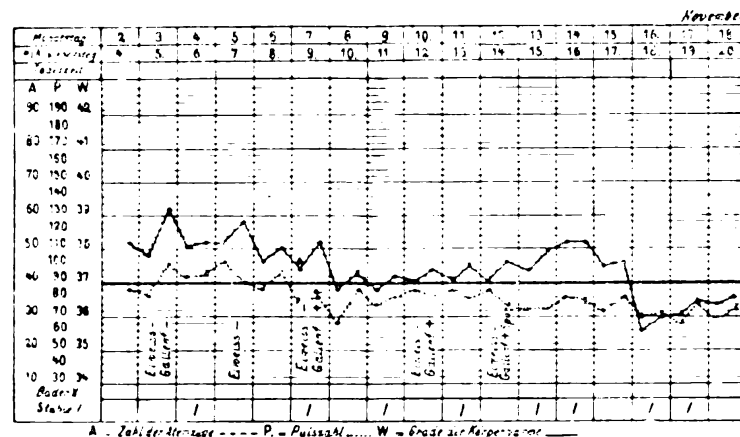
4. XI. Schwellung der Unterarme.

5. XI. Erbrechen. Herpes. Schwellung der Hände, Füße und Unterschenkel. Starke Druckempfindlichkeit der Waden.

10. XI. Ikterus geht zurück. Beschwerden lassen nach.

12. XI. Rezidiv.

Allmählicher Uebergang des leichten Falles in Heilung.



Kurve 2. Fall Thi.

Defibriniertes Blut vom 3. XI.

3. XI. 1915. Meerschw. 253: 1,0 ccm i.c. 10. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 254: 2,0 ccm i.p. 11. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Urin.

Meerschw. 255: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Schnell. (s. p. 373, 448).

Beginn am 7. X. 1915 mit Frösteln, heftigen Kopfschmerzen und Schlingbeschwerden. Bei Lazarettaufnahme am 7. X. wird Angina lacunaris festgestellt.

1) S. auch oben die ersten positiven Fälle Schoo., See. (p. 320–325).

9. X. Nacken- und Gelenkschmerzen.

11. X. Deutlicher Ikterus. Im Urin Eiweiß. Keine Wadenschmerzen.

12. X. Hautjucken. Oedem an Händen und Gesicht. An den Unterarmen Petechien.

17. X. Ausschlag hat ziemlich den ganzen Körper überzogen (s. Taf. IV, Fig. 8).

21. X. Ausschlag ist geschwunden. Befinden gut.

24. X. Erneuter Temperaturanstieg.

28. X. Ikterus blaßt ab.

9. XI. Seit 25. X. auffallende Steigerung der Pulsfrequenz.

Defibriniertes Blut am 12. X. 1915 entnommen, durch Boten geschickt.

12. X. 1) Meerschweinchen Kopf rot: 2,0 ccm i.c. 23. X. †, gelb. Befund typisch.

2) Meerschweinchen Rücken rot: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. Nachgeimpft am 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Siehe Kurve 3 p. 448.

Urin.

Meerschweinchen Rücken blau: 0,5 ccm i.p., gesund geblieben. Nachgeimpft am 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Fall Fra. (siehe Stammbaum p. 472).

Beginn am 5. X. 1915 mit Frösteln, Durchfällen, Kreuzschmerzen, Brustschmerzen, Mattigkeit in den Gliedern.

Lazarettaufnahme am 9. X.

11. X. Deutliche Gelbfärbung der Haut. Im Urin Eiweiß.

16. X. Hautjucken, Nasenbluten.

18. X. Okergelbe Hautfärbung. An Bauchhaut zahlreiche Petechien. Wadenschmerzen lassen nach.

22. X. Ausschlag geschwunden. Allgemeinbefinden besser.

28. X. Conjunctivitis.

30. X. Erneute Temperatursteigerung.

24. XI. Ikterus fast völlig geschwunden. Krankheit geht allmählich in Genesung über.

12. X. Blut durch Boten von S. gebracht.

12. X. 1915. 1) Meerschweinchen Kopf rot: 2,0 ccm i.c. 18. X. gelb. 19. X. †, Befund typisch.

2) Meerschweinchen Rücken rot: 2,0 ccm i.p. 18. X. gelb. 19. X. †, Befund typisch.

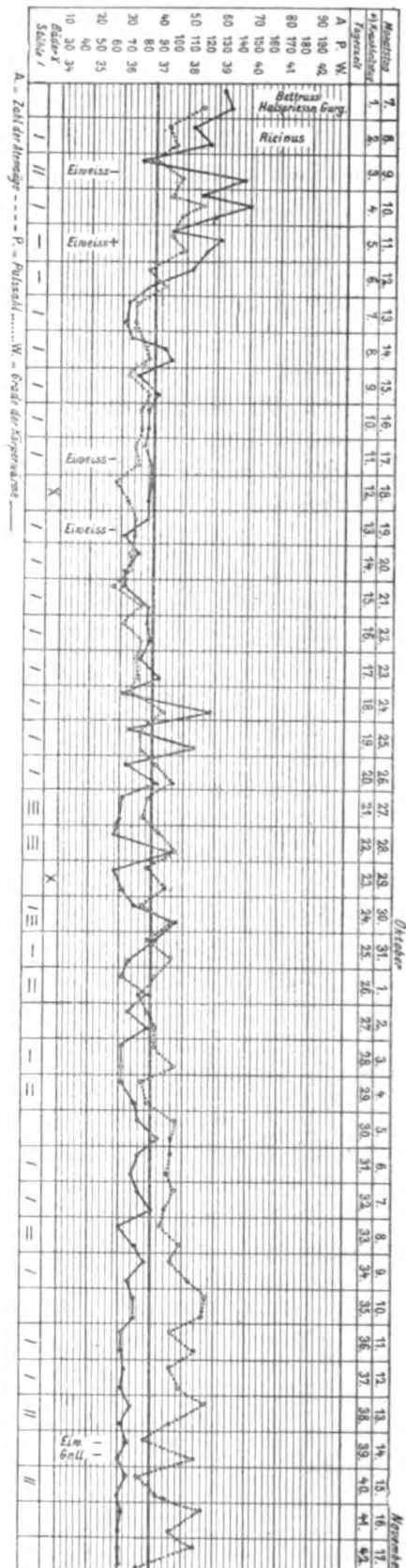
Siehe Kurve 4 p. 448.

Urin (gelb, klar).

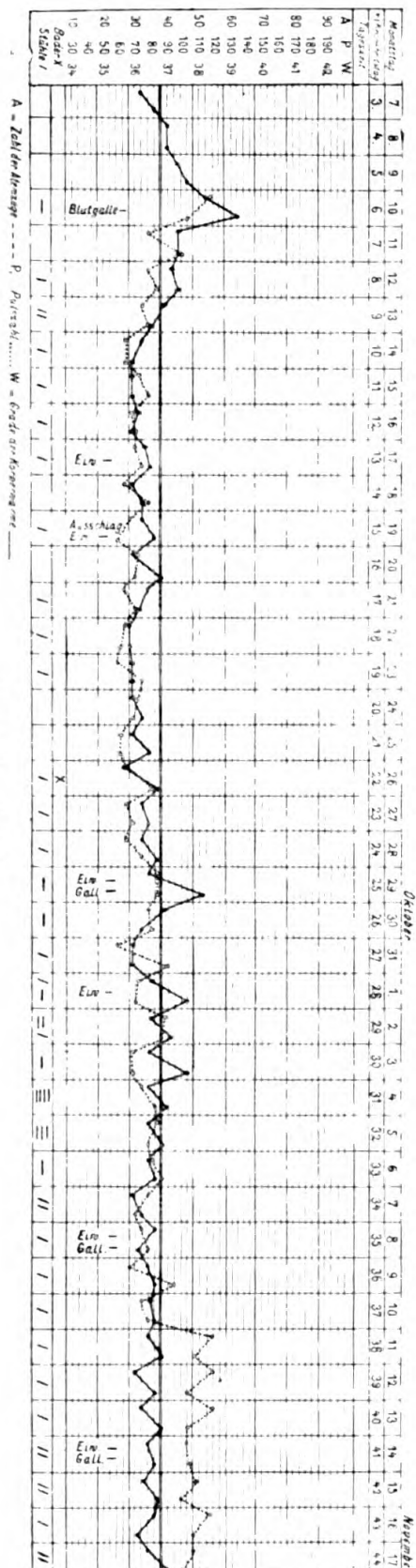
Meerschweinchen: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Haup.

Beginn am 9. XI. 1915 plötzlich mit Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Husten, Schmerzen im Nacken, Rücken und Kreuz.



Kurve 3. Fall Schnei.



Kurve 4. Fall F1a.

Bei Lazarettaufnahme am 11. XI. Rachenrötung, Bronchitis, Druckempfindlichkeit der Rückenmuskulatur, Hyperalgesie des ganzen Körpers, starke Kopfschmerzen.

13. X. starker Druckschmerz auch der Waden-, Oberschenkel- und Armuskulatur. Uebelkeit, Erbrechen, große Hinfälligkeit. Beginnender Ikterus, trockener schmerzhafter Husten. Leberpunktion. Einspritzung von 10 ccm Rekonvaleszentenserum subkutan.

14. XI. Allgemeinbefinden wesentlich besser. Gliederschmerzen geringer. Nachmittags Temperaturerhöhung, leichtes Oedem des Gesichts. Leber druckempfindlich.

15. XI. Ikterus stärker.

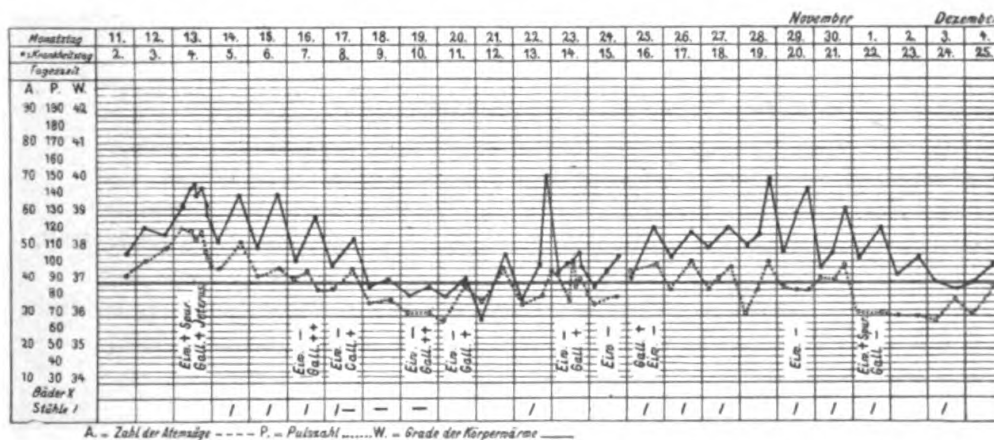
16. XI. 4 Uhr nachmittags Injektion von 10 ccm Rekonvaleszentenserum.

17. XI. Nach der Injektion Temperatur bis 39°. Keine Nebenerscheinungen. Gliederschmerzen vollkommen geschwunden. Druckschmerz in der Lebergegend nicht mehr vorhanden. Keine Kopfschmerzen. Allgemeinbefinden wesentlich besser.

20. XI. Erbrechen, Nasenbluten. Ikterus geringer.

21. XI. Temperaturanstieg. Erbrechen. Nasenbluten.

23. XI. Zustand verschlechtert. Zeitweise schwer benommen. Zeitweise starke Unruhe, Temperatur bis 40,2. Schweißausbruch, Delirien.



Kurve 5. Fall Haup.

14. XI. Defibriniertes Blut durch Boten.

14. XI. Meersch. 291: 2,0 ccm i.p. 23. XI. gelb. † Befund typisch.

Spir. (Leber) +.

Urin.

Meersch. 254: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

22. XI. Rezidivstadium (benommen), defibr. Blut.

Meersch. 87: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. } Bei der Nachimpfung

Meersch. 88: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. } erkrankt, †.

Fall Fried. (siehe Stammbaum p. 475).

Beginn unsicher. Lazarettaufnahme am 29. X. 1915 wegen Muskelquetschung der rechten Lendengegend angeblich durch Auffallen eines Steines am 24. X. Außer etwas Husten kein Befund.

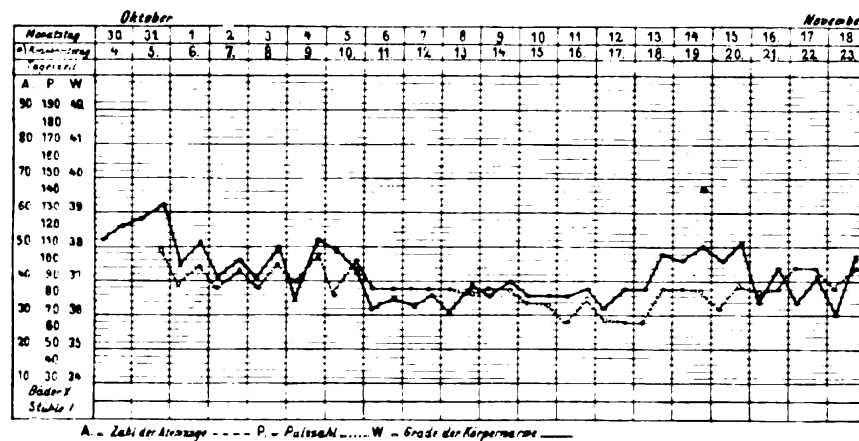
31. X. Starker Ikterus und Temperaturanstieg.

1. XI. Muskelschmerzen in Oberarm und Waden. Ockergelbe Hautverfärbung. Lebergegend druckempfindlich. Vereinzelte Petechien auf der Bauchhaut. Eiweiß +.

2. XI. Leichtblutiger Auswurf. Intravenöse Injektion von 0,4 ccm Neosalvarsan.

6. XI. Allgemeinbefinden besser, keine Muskelschmerzen.

13. XI. Wiederum Temperaturanstieg.



Kurve 6. Fall Fried.

Blut am 1. XI. entnommen.

1. XI. 1915. Meerschw. 236: 1,0 ccm def. Blut i.c. 7. XI. gelb.

8. XI. †, Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 237: 2,0 ccm def. Blut i.p. 7. XI. gelb. 8. XI. †, Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Urin.

Meerschw. 238: 2,0 ccm Urin i.p., gesund geblieben.

12. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 18. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Fall Br. (Laboratoriumsinfektion). (Siehe oben und Stammbaum p. 473.)

Beginn am 9. XI. 1915 plötzlich mit Schüttelfrost, Kopfschmerz, Schluckbeschwerden, Gliederschmerzen besonders in den Beinen, allgemeine Mattigkeit.

Vom 4. Krankheitstage an heftige Wadenschmerzen, ferner Nasenbluten, nächtlicher Schweißausbruch. Trockener schmerzhafter Husten. Rezidiv in der 3. Woche. Langsame Rekonvaleszenz. Gelbfärbung nicht beobachtet. Vgl. ausführliche Darstellung dieses Falles siehe Goebel, Med. Klin., 1916, No. 15.

11. XI. 1915. Meerschw. 451: Def. Blut + NaCl 5,0 ccm i.p. 18. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Fall M. (Laboratoriumsinfektion). (Siehe oben und Stammbaum p. 474).

Beginn am 28. XI. mit Fieber und Halsschmerzen, am 3. XII. Aufnahme ins Lazarett. Halsentzündung. Bronchitis. Etwas Eiweiß im Urin.

14. XII. Conjunctivitis.

15. XII. Augenschmerzen. Iritis. Leichte Linsentrübungen beiderseits.

16. XII. Wegen zentralen Kapselstars mit hinteren Synechien beiderseits der Augenstation überwiesen.

5. I. Dienstfähig.

Gelbsucht nicht beobachtet.

Vgl. ausführliche Beschreibung dieses und des vorigen Falles siehe Goebel, Med. Klinik, 1916, No. 15, Fall 2.

28. XI. Meerschw. 527: 2,0 ccm Blut i.p. 5. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 528: 2,0 ccm i.p. 5. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

II. Verimpfung am 6. XII. M. ist gerade fieberfrei, gleichzeitig wird das abgesetzte Serum auf Antikörper geprüft (s. p. 377).

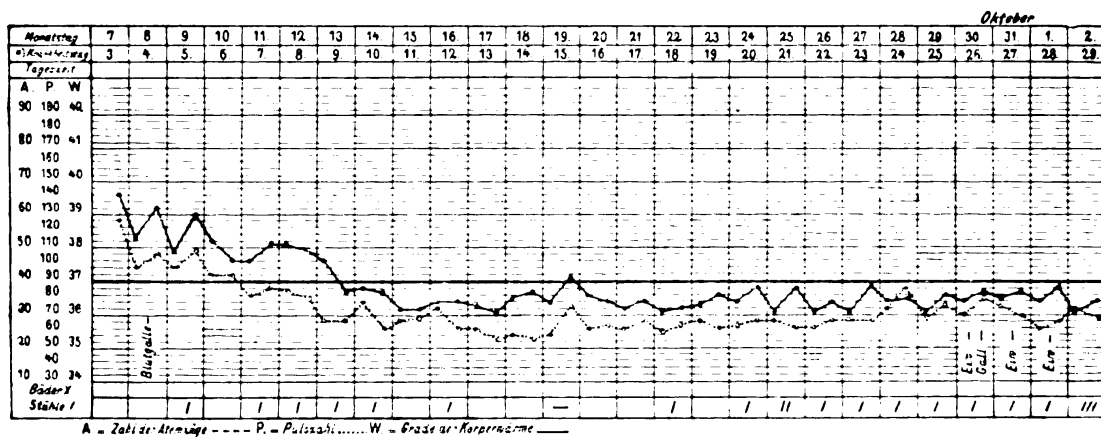
Meerschw. 653: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben. } Bei der Nachimpfung erkrankt, †.

Meerschw. 654: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben. }

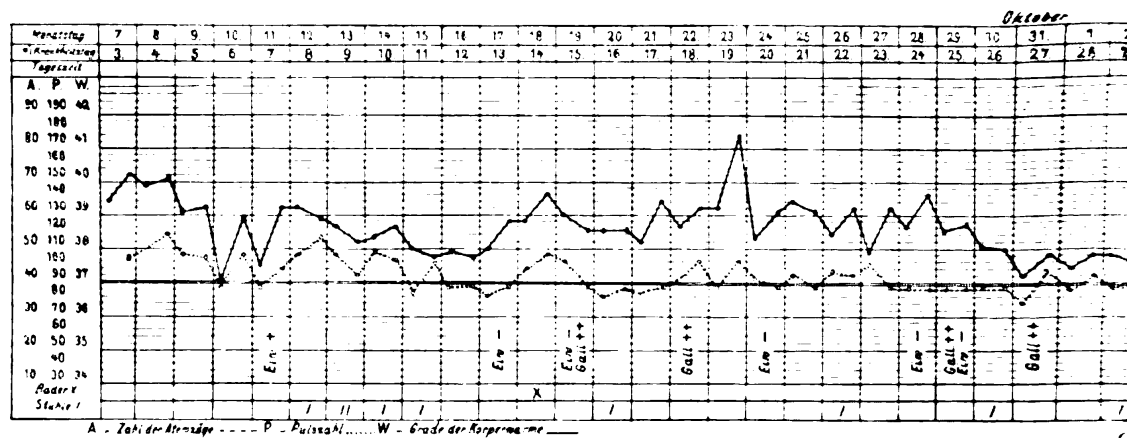
Fall Schu. (siehe Stammbaum p. 471).

Beginn der Erkrankung am 3. X. 1915 mit Fieber, Kopfschmerzen, allgemeiner Mattigkeit. „Konnte kaum gehen.“

Befund bei Lazarettaufnahme am 5. X. ist folgender: Leichter Ikterus, starke Druckempfindlichkeit der Waden und Oberschenkel. Zunge dick belegt. Temperatur hoch und entsprechend erhöhte Pulszahl. Allgemeine Mattigkeit. Im weiteren Verlauf nahm die Gelbfärbung zu. Seit 18. X. wesentliche Besserung, Zurückgehen der Beschwerden und allmählicher Uebergang in Genesung.



Kurve 7. Fall Schu.



Kurve 8.

Blut an Ort und Stelle entnommen und verimpft am 10. X. 1915.

10. X. 1915. 1) Meersch. Kopf rot: 0,75 ccm i.c. 17. X. gelb.
19. X. †, Befund typisch.

2) Meersch. Rücken rot: 2,0 ccm i.p. 19. X. gelb. 20. X. †, ent-
blutet. Befund typisch. Spir. (Leber) +.

3) Meersch. hinten rot: 2,0 ccm i.p. 17. X. gelb. 18. X. †, ent-
blutet. Befund typisch. (Spir. (Leber) +.

Urin.

Meersch. Kopf blau: 1,0 ccm Urin i.p. 17. X. gelb. 18. X. †, Be-
fund typisch. Spir. (Leber) +.

Fall Kre. (s. p. 375, 465).

Beginn am 6. X. 1915 mit Fieber, starkem Schüttelfrost, großer Mattig-
keit. Bei Lazarett Aufnahme am 7. X. starke Benommenheit, Hustenreiz.
Druckschmerzen in der Kreuzgegend, der Hals-, Nacken- und Kau-
muskeln.

11. X. Deutliche Gelbfärbung der Haut. Erbrechen. Leber druck-
empfindlich. Schmerzhaftigkeit besonders der Waden. Conjunctivitis.
Im Urin Eiweiß.

13. X. Beschwerden erheblich, Oedem der Oberschenkel.

17. X. Ockergelbe Haut. Druckempfindlichkeit der Beinmuskeln noch
stark. Erbrechen seltener.

18. X. An Armen und Beinen Petechien, Hautjucken, Hustenreiz,
Frösteln.

23. X. Mit Temperaturerhöhung auf 41,3 starke Benommenheit.

31. X. Blutiger Auswurf.

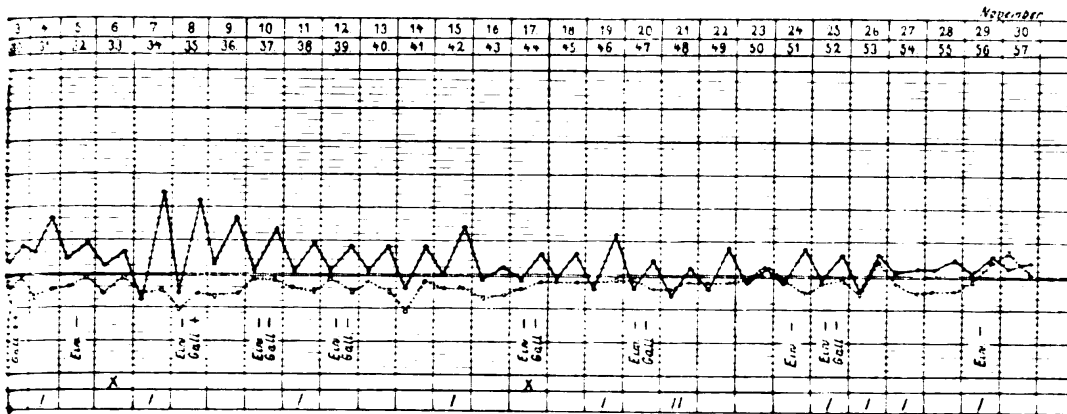
4. XI. Ikterus blaßt ab. Muskelschmerzen bestehen noch.

7. XI. Wieder Temperaturanstieg auf 39,4, starkes Schwitzen.

16. XI. Hautjucken noch lästig.

23. XI. Besserung nur langsam.

Blut in Si., am 12. X. 1915 entnommen, durch Boten dem Labora-
torium direkt zugesandt.



Fall Kre.

12. X. 1) Meerschw. Kopf rot: 2,0 ccm i.c. 21. X. gelb. 22. X. †, Befund typisch. Spir. (Leber) +.

2) Meerschw. Rücken rot: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. Nachgeimpft am 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Urin (klar, ikterisch) vom 12. X. 1915.

Meerschw. Rücken blau: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. Nachgeimpft am 1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Rezidiv.

9. XI. defibriniertes Blut vom 9. XI. durch Boten gesandt (Serum ikterisch).

Meerschw. 409: 4,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Urin.

Meerschw. 410: 2,5 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Hel. (siehe Stammbaum p. 472).

Beginn am 1. X. 1915 mit Unwohlsein, Gelenkschmerzen, Schüttelfrost, Kopfschmerzen. Bei der Lazarettaufnahme am 5. X. beginnender Ikterus, vereinzelte kleine Petechien der Rumpfhaut, Druckempfindlichkeit der Waden- und Oberschenkelmuskulatur, sowie der Lenden; Leber auf Druck schmerzhaft, Urin eiweißhaltig. Temperaturerhöhung mit entsprechend erhöhter Pulszahl. Im weiteren Verlauf starker Ikterus. Temperatur fiel vom 7. X. an staffelförmig ab. Im Auswurf Blut. Erbrechen und Nasenbluten mehrfach. Mitte Oktober an Händen und Füßen, sowie am Rücken aus bis bohngroßen, leicht erhabenen, intensiv roten Flecken bestehendes Exanthem. Hautjucken. Fieberverlauf ist aus beigelegter Kurve ersichtlich. Am 19. X. trat Rezidiv auf. Der weitere Krankheitsverlauf ohne Besonderheiten.

7. X. 1915. 1) Meerschw.: 3,0 ccm def. Blut i.p. 16. X. gelb. 17. X. †, Befund typisch.

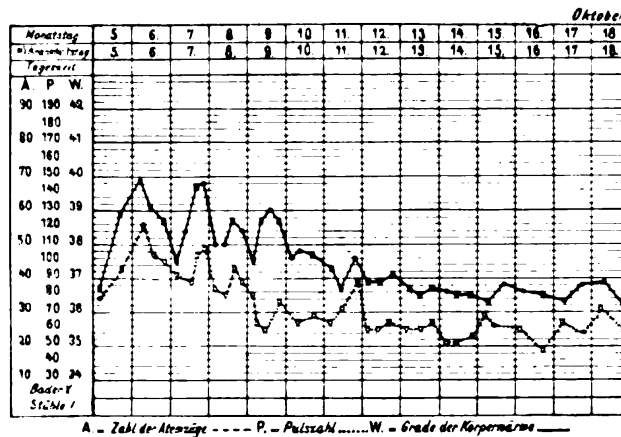
2) Meerschw.: 1,5 ccm Blut i.c. (Angora). 17. X. gelb. 19. X. †, Befund typisch. Spir. (Leber) + (wenig).

Rezidiv.

Material wird durch Boten abgeholt.

21. X. Meerschw. 121: Def. Blut 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 122: Def. Blut 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.



Kurve 9. Fall Heik.

Urin.

Meerschw. 123: 2,0 ccm Urin i.p., gesund geblieben.

Zu Beginn eines ausgesprochenen Rezidivs entnommenes Blut eines Falles von Weilscher Krankheit, dessen Blut am 7. Krankheitstage beim Meerschweinchen Ikterus ausgelöst hatte, hat sich also auch in diesem Falle als nicht virulent erwiesen.

Fall Bög. (siehe Stammbaum p. 470).

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Erkrankt 10. XII. Durchfall, Gelenk-, Waden- und Kopfschmerzen.

14. XII. Aufnahme ins Lazarett.

15. XII. Wadenschmerzen und Schmerzen im ganzen Körper. Bis jetzt kein Ikterus, nur Skleren angedeutet.

16. XII. 10,0 ccm Rekonvaleszentenserum. Urin: Eiweiß ++, Gallenfarbstoff +.

16. XII. Blut durch Boten überbracht.

Meerschw. 802: 2,0 ccm Blut i.p. 25. XII. gelb. † Befund typisch.

Meerschw. 803: 2,0 ccm Blut i.p. 25. XII. gelb. † Befund typisch.

Fall Blien. (siehe Stammbaum p. 470).

Diagnose: Weilsche Krankheit (Beginn am 9. XII.).

16. XII. Meerschw. 798: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 799: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

5. XI. nachgeimpft; typisch erkrankt.

Urin.

Meerschw. 800: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 801: 2,0 ccm i.p. 27. XII. gelb. † Befund typisch.

Positive Fälle siehe weiter unter „Stammbaum“ Fall Fock., Pöt., Muck., Ress., Bey., Dom., Bern.

Im Tierversuch negative Fälle (sicher Weil).

Fall Frit.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Beginn etwa am 21. IX. 1915 mit Kopf-, Hals- und Brustschmerzen, sowie Uebelkeit.

Lazarettaufnahme am 24. IX.

27. IX. Große Schwäche, Stirn- und Nackenschmerzen. Blutiger Auswurf. Milzgegend druckempfindlich.

28. IX. Beginnender Ikterus. Auf Bauchhaut Petechien. Geringe Wadenschmerzen.

30. IX. Ikterus ausgesprochen. Starke Benommenheit. Lebergegend druckempfindlich. Im Urin viel Eiweiß.

2. X. Petechien lassen nur noch das Gesicht frei. Durchfälle.

3. X. Blutiger Auswurf.

4. X. Plötzlich Exitus letalis.

Sektionsergebnis (Prof. Beitzke): Krankheitsbezeichnung: Allgemeine Gelbsucht, punktförmige Blutungen in zahlreichen Organen, besonders an Haut, Schleimhäuten und serösen Häuten. Blutige Entzündung der harten Hirnhaut (Pachymeningitis haem. interna). Schwere trübe Schwellung der Niere mit leichten Einrissen der Oberfläche und dadurch bedingten Blutungen ins Nierengewebe und Nierenkapsel. Lungenödem, alte Spitzentuberkulose links, Käseherd in einer rechtsseitigen Bronchialdrüse, geringe Schwellung von Leber und Milz.

30. IX. 1915. Blut an Ort und Stelle verimpft.

Meerschw.: 2,0 ccm i.p., 1,0 ccm i.m. 20. X. getötet, o. B. Leber verimpft auf Meerschw. 87, gesund geblieben.

Meerschw.: 2,0 ccm i.p. 20. X. getötet, o. B. Leber verimpft auf Meerschw. 86, gesund geblieben.

Leiche Frit.

4. X. gestorben. Sektion 5. X.

5. X. 1915. Herzblut (bei der Sektion), verimpft auf Meerschw.: 1,5 ccm i.c., gesund geblieben. 20. X. getötet, o. B. Leber verimpft auf Meerschw. 84, gesund geblieben.

Meerschw.: 1,5 ccm i.p., gesund geblieben. 20. X. getötet, o. B. Leber verimpft auf Meerschw. 85: gesund geblieben.

Fall Hey.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Blut am 24. X. mit Post abgeschickt.

26. X. 1915. Meerschw. 175: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw.: 176: 1,5 ccm i.p., gesund geblieben. 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Fall Schü. (s. p. 363, 372, 374).

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Schwerer Fall. Blut durch Boten gebracht.

Beginn am 15. X. 1915 mit starkem Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Schwindel, allgemeine Mattigkeit, Wadenschmerzen.

Lazarettaufnahme am 16. X.

20. X. Lebergegend druckempfindlich. Beginnender Ikterus. Erbrechen.

24. X. Tief ockergelbe Hautfärbung.

26. X. Zahlreiche stecknadelkopf- bis linsengroße, leicht erhabene Flecken an Brust, Rücken und Oberschenkeln.

30. X. Hautschuppung auf der Stirn. Wadenschmerzen bestehen noch. Hautjucken.

20. XI. Dauernd fieberfrei. Ikterus noch stark. Hautjucken. Ziemlich schwerer Verlauf, der nunmehr allmählich in Genesung übergeht.

Siehe Kurve 10 p. 457.

Blutentnahme 22. X. (also am 7. Krankheitstag).

Meerschw. 143: 2,0 ccm i.c. 27. X. †, nicht gelb, o. B.

Meerschw. 144: 1,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Urin.

Meerschw. 145: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Fall Löw. (s. oben Serumtitration, p. 365, 372, 374).

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Gelb. Leichter Fall. Blut durch Boten geschickt.

Beginn am 7. X. 1915 mit Kopfschmerzen, danach Leibschmerzen, Gliederschmerzen.

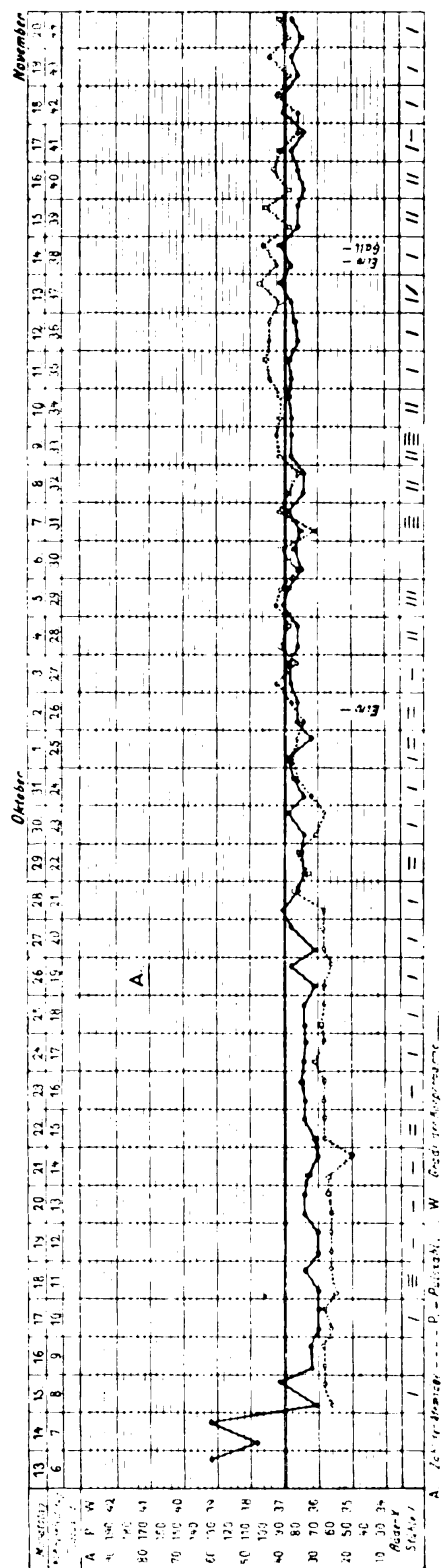
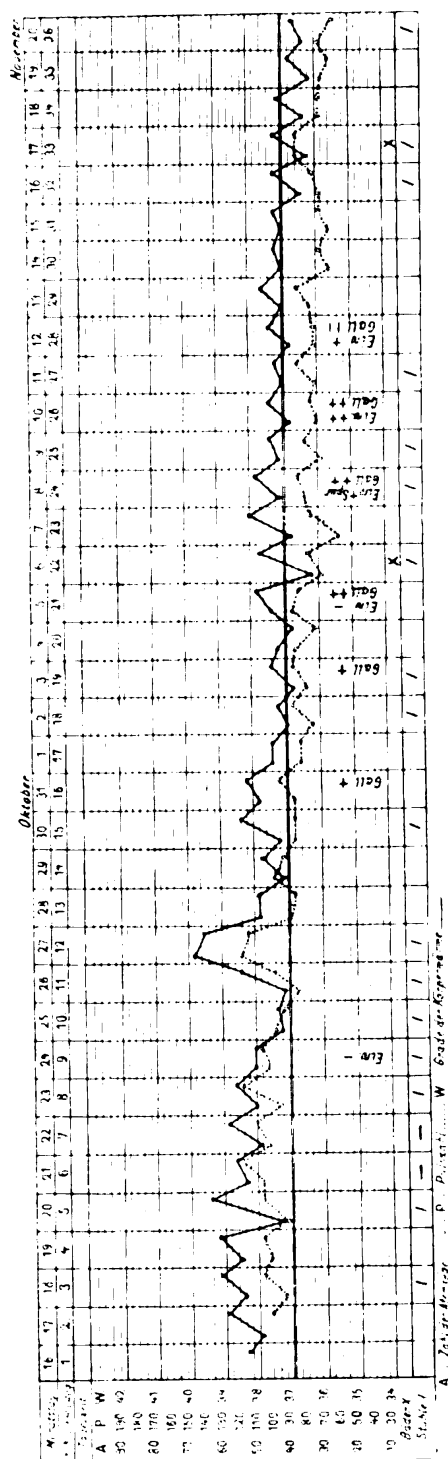
Lazarettaufnahme am 14. X.: Ikterus, Druckempfindlichkeit der Waden und Oberschenkel, Hautjucken. Leber druckempfindlich.

22. X. Ikterus stark zurückgegangen. Muskeln noch schmerzhaft. Schwellung des linken Oberschenkels.

3. XI. Ikterus völlig geschwunden.

Heilung, mittelschwerer Fall.

Siehe Kurve 11 p. 457.



Blut am 17. X. entnommen.

Meerschw. 42: 2,0 ccm i.c., gesund geblieben.

1. XI. mit Leberbrei nachgeimpft. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Spir. (Leber) +.

Meerschw. 43: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

1. XI. mit Leberbrei nachgeimpft, gesund geblieben. 7. XI. gelb.

† Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Am 19. X. noch einmal Blut und Urin geschickt.

Meerschw. 69: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch.

Spir. (Leber) +.

Meerschw. 70: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch.

Spir. (Leber) +.

Urin.

Meerschw. 74: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei. 15. XI. gelb. † Befund typisch.

Spir. (Leber) +.

Fall Geiss.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

28. X. 1915 defibriniertes Blut und Urin von M. durch Boten geschickt.

Beginn am 23. X. 1915 mit Erbrechen, Fieber, Schmerzen im Kopf und in der linken Seite. Bei

Lazarettaufnahme am 25. X. Ikterus, Herpes labialis, trockener schmerzhafter Husten. Druckempfindlichkeit der Milzgegend. Im Urin reichlich Eiweiß.

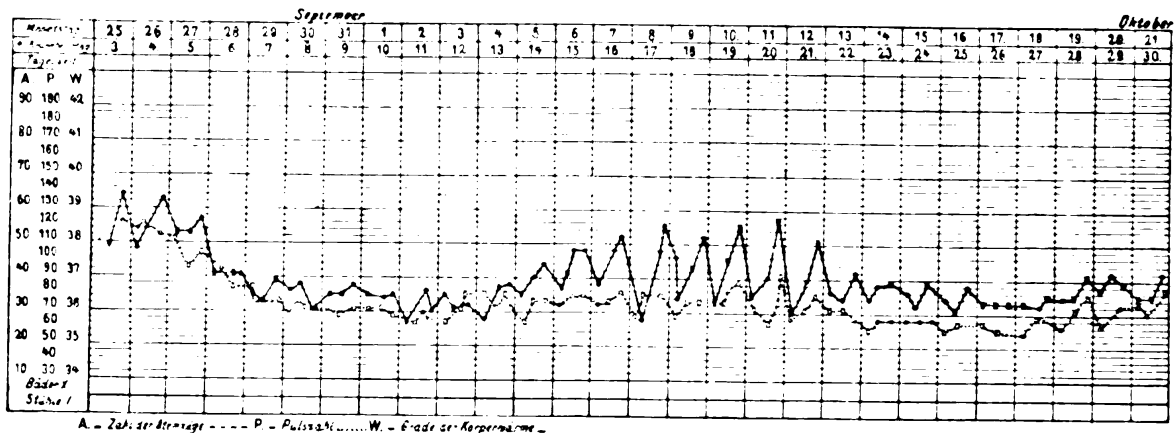
30. X. Kein Fieber, keine Albuminurie.

5. XI. Schweiß und Temperaturanstieg.

13. XI. Ikterus wieder deutlicher.

18. XI. Bronchitis besteht noch.

Anscheinend normaler Verlauf in Genesung.



Kurve 12. Fall Geiss.

28. X. Meerschw. 200: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 201: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch.

Urin (gelb, gallig).

Meerschw. 202: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 11. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Fall Eb. (s. oben Serumtitration, p. 370 etc.).

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Beginn am 8. X. nachmittags mit starkem Krankheitsgefühl, Schweißausbruch, Schwindel, mäßigen Kopfschmerzen, Schluckbeschwerden, Husten, Wadenschmerzen, Schmerzen in den Knie- und Ellenbogengelenken.

13. X. 1915. Meerschw. 166: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +

Meerschw. 165: 3,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Urin.

Meerschw. 167: 3,0 ccm i.p., gesund geblieben.

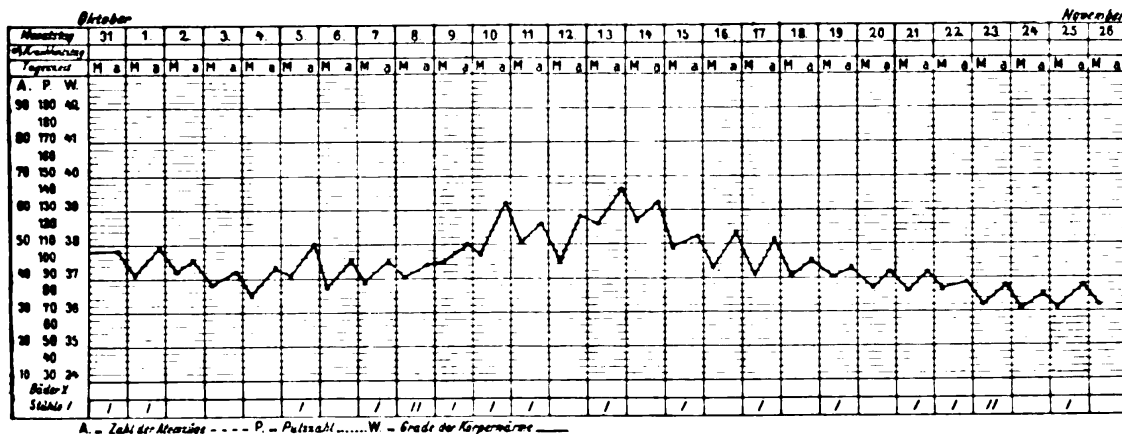
6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. nicht untersucht.

Fall Folg.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Defibriniertes Blut durch Boten geschickt.

Aufgenommen im Lazarett C. am 31. X. 1915.



Kurve 13. Fall Folg.

Am 26. X. Kopf-, Hals- und Rückenschmerzen, Schwächegefühl. Einige Tage später Gelbfärbung. Starke Schmerzen in den Waden und Oberschenkeln. 30. XI. Lebergegend schmerzhaft. Leber vergrößert, fühlbar. Urin: Eiweiß ++. Zylinder. Druckempfindlichkeit der Waden. Milz nicht fühlbar.

9. XI. Urin: Eiweiß 0.

16. XI. Leber nicht mehr vergrößert; Spuren von Eiweiß im Urin.

19. XI. Abfall der Temperatur.

24. XI. Temperatur normal. Gelbfärbung ziemlich verschwunden. Wohlbefinden.

2. XI. 1915. Meerschw. 250: 1,0 ccm i.c., gesund.

13. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.

Meerschw. 251: 2,0 ccm i.p., gesund.

13. XII, nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.

† Befund typisch.

Urin.

Meerschw. 252: 2,0 ccm i.p., gesund.

13. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberemulsion i.p. 18. XII. gelb.

Fall Wass.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Blut und Urin durch Boten gebracht.

Beginn am 25. X. 1915 mit Schüttelfrost, Fieber, Kopfschmerzen, Appetitlosigkeit, Mattigkeit, Brechreiz. Bei

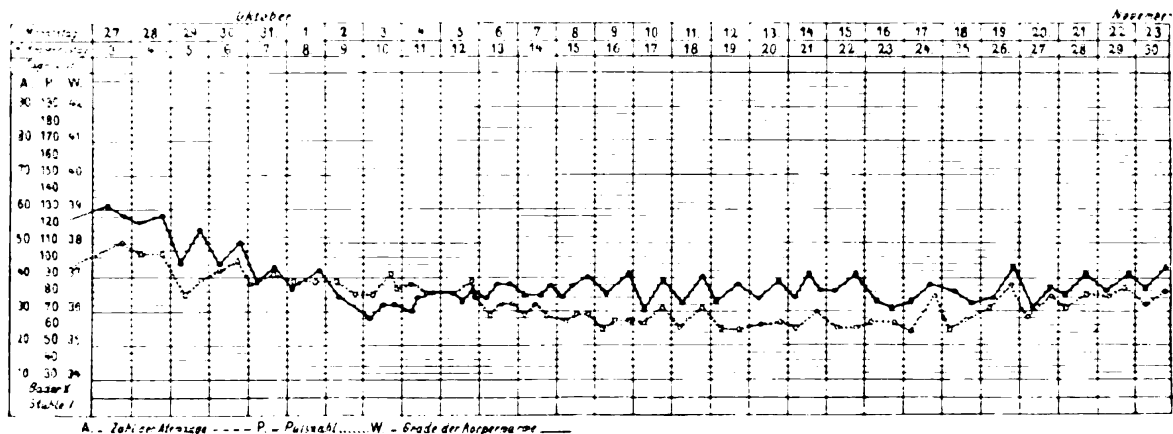
Lazarettaufnahme 27. X. Druckempfindlichkeit der Gallenblasengegend.

29. X. Ikterus. Eiweiß im Urin; Erbrechen.

5. XI. Schmerzen in den Beinen bestehen noch.

9. XI. Hautjucken. Gelbfärbung geht zurück. Noch große Mattigkeit.

Allmählicher Uebergang zur Genesung.



Kurve 14. Fall Wass.

4. XI. 1915. Meerschw. 258: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

Meerschw. 259: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Urin.

Meerschw. 260: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Hdr.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Beginn am 10. XI. 1915 plötzlich mit Schüttelfrost, Kopf- und Wadenschmerzen.

Bei Lazarettaufnahme am 14. XI. Conjunctivitis, leichte Gelbfärbung der Skleren, starke Druckempfindlichkeit der Waden- und Oberschenkelmuskulatur.

16. XI. Kein Ikterus. Große Schmerzhaftigkeit der Waden- und Oberschenkelmuskulatur, große Mattigkeit, starke Kopfschmerzen. Blutentnahme.

Injektion von 10 ccm Rekonvaleszentenserum.

17. XI. Allgemeinbefinden besser. Vollkommenes Fehlen von Muskelschmerzen in Waden und Oberschenkeln. Stirnkopf- und Nackenschmerzen noch vorhanden.

18. XI. Kopfschmerzen geschwunden. Im oberen Teil besteht noch Druckempfindlichkeit.

25. XI. Subjektives und objektives Wohlbefinden hat angehalten.

16. XI. 1915. Meerschw. 308: 2,0 ccm i.p. 17. XI. †, ohne Befund. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 404: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Kno.

Am 11. XI. 1915 plötzlich erkrankt. Schüttelfrost, Uebelkeit, Erbrechen, Muskelschmerzen.

12. XI. Wadenschmerzen. Gelbsucht.

14. XI. Lazarettaufnahme: Starker Ikterus. Muskelschmerzen, besonders der Waden. Temp. 37,6°. Leber vergrößert, druckempfindlich. Milz: o. B. Nasenbluten.

16. XI. Sehr starker Ikterus. Wadenschmerzen. Mattigkeit.

17. XI. Zustand unverändert. Eiweiß —, Gallenfarbstoff +. Anhaltendes Nasenbluten. Haut braungelb. Eiweiß +, Galle +.

21. XI. Schlechtes Allgemeinbefinden. Benommenheit. Nasenbluten.

22. XI. Läßt unter sich. Plötzlicher Exitus.

23. XI. 1915. Sektionsbefund (Prof. Beitzke): Hochgradiger Ikterus; einzelne Hautblutungen (Petechien). Zahlreiche Blutungen unter dem Lungenfell und im Lungengewebe, Oedem der Unterlappen. Septische Milzschwellung. Blutungen in das Milzgewebe. Blutungen unter dem Bauchfellüberzug des Gekröses. Blutungen in der Magenschleimhaut. Oedem und trübe Schwellung der Leber. Oedem und trübe Schwellung der Nieren. Blutungen im Nierenbecken. Blutungen in den Nebennieren. Oedem des Gehirns.

Schlußgutachten: Es handelt sich um eine mit schwerem Ikterus, hämorrhagischer Diathese, Oedem einhergehende parenchymatische Erkrankung der inneren Organe, welche in allen Punkten der Weilschen Krankheit entspricht. Der Tod ist erfolgt durch die Schwere der Infektion unter dem Bilde einer schweren Vergiftung des Blutes. (Beitzke.)

Blut vor dem Tode am 22. XI. entnommen.

22. XI. 1915. Meerschw. 34: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 35: 2,0 ccm Blut i.p. 24. XI. †, Seuche! Spir. (Leber) 0.

23. XI. 1915. Leichenmaterial von der Sektion verimpft.

I. Leber:

Meerschw. 439: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 385: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p., gesund geblieben.

II. Niere:

Meerschw. 465: 2,0 ccm Aufschwemmung i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 367: 2,0 ccm Aufschwemmung i.p. 24. XI. †, o. B.

III. Ventrikelflüssigkeit:

Meerschw. 453: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 442: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Henk.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Eingeliefert als Typhusverdacht, wegen geringen Ikterus und deutlicher Wadenschmerzen als Weil geführt. Jetzt deutlicher Ikterus. Waden-, Rücken- und Kopfschmerzen. Blut vom 17. XII.

18. XII. abends. Meerschw. 825: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. Nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Meerschw. 826: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. Nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Fall Bey. (siehe Stammbaum p. 472).

Diagnose: Weilsche Krankheit (Beginn am 8. XII. 1915).

Am 15. XII. 1915 10,0 ccm Rekonvaleszentenserum. Darauf Anstieg der Temperatur.

Am 16. XII. Subjektives Befinden gebessert. Ikterus deutlich in Haut und Skleren. Kopfschmerzen sind geschwunden. Wadenschmerzen bestehen noch. Temperatur heute früh 37,7°. Urin: Eiweiß ++, Galle +. Spuren.

17. XII. Ikterus verstärkt, schweres Krankheitsbild. Blutaustritte in der Haut, Nasenbluten, viel Erbrechen.

15. XII. 1915. Meerschw. 789: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 790: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

II. Verimpfung. Blut vom 17. XII. Blut fast 24 Stunden alt.

17. XII. 2³⁰ Uhr nachmittags Blutentnahme, danach nochmalige Injektion von 10 ccm Rekonvaleszentenserum.

18. XII. 1915 abends. Meerschw. 819: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 820: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Web.

Diagnose: Weilsche Krankheit (Beginn am 10. XII. 1915).

Frischer Fall; Blut mitgebracht. Mit 10,0 ccm Serum vorbehandelt vormittags. Allgemeinbefinden am Nachmittag bedeutend gebessert. Temperaturanstieg auf 40°.

16. XII. Temperatur kritisch abgefallen. Gelbfärbung geringer. Klagt über geringe Kopfschmerzen. Urin: Eiweiß —, Spuren, Galle +, Spuren.

15. XII. Meerschw. 787: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Meerschw. 788: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Fall Lind.

Diagnose: Weilsche Krankheit (Beginn am 12. XII. 1915).

Außer Ikterus keine Beschwerden. Blut vom 17. XII.

18. XII. Meerschw. 827: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

7. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Meerschw. 828: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

7. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Fall Ko.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Blut durch Boten.

Plötzlicher Beginn am 6. XI. 1915 mit Schüttelfrost, Kopf-, Hals- und Wadenschmerzen. Seit 10. XI. Ikterus. 13. XI. Lazarettaufnahme wegen katarrhalischen Ikterus. Urin: Eiweiß +, Gallenfarbstoff ++.

15. XI. Milz vergrößert, Wadenschmerzen nachgelassen.

16. XII. Ikterus abgeblaßt. Allgemeinbefinden besser. Eiweiß —, Gallenfarbstoff +. Allmähliche Rekonvaleszenz.

14. XI. Meerschw. 490: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Fall Hus.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Ikterus; erkrankt am 30. XI. Blut vom 1. XII. 4 Uhr.

Patient wurde am 30. XI. mit Fieber ins Lazarett aufgenommen.

1. XII. Starke Gelbfärbung der Haut und Skleren.

2. XII. Meerschw. 553: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 554: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Fall Müll.

Diagnose: Weilsche Krankheit.

Beginn am 25. IX. 1915 mit Leibschmerzen und Mattigkeit. Bei Lazarettaufnahme am 27. IX. Ikterus, Druckempfindlichkeit in Milz und Lebergegend, leichte Benommenheit.

30. IX. Meerschw.: 2,5 ccm i.p., gesund geblieben. 20. X. getötet.

Leber verimpft auf Meerschw. 88: gesund geblieben.

Meerschw.: 2,5 ccm i.p., gesund geblieben. 20. X. getötet.

Leber verimpft auf Meerschw. 89: gesund geblieben.

Fall Eb.

Diagnose: Weilsche Krankheit (Beginn am 1. XII. 1915).

Blut vom 8. XII.

9. XII. Meerschw. 680: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Meerschw. 681: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Fall Hühn.

Diagnose: Weilsche Krankheit (Beginn am 9. XII. 1915).

Deutlicher Ikterus, starke Wadenschmerzen.

17. XII. 3 Uhr nachmittags Blutentnahme.

Injektion 10 ccm Rekonvaleszentenserum.

18. XII. 1915. Blut hat 24 Stunden gestanden.

Meerschw. 821: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

7. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Meerschw. 822: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

7. I. nachgeimpft. Typisch erkrankt.

Fall Niet. (s. p. 375).

Beginn am 4. XI. mit Frieren, allgemeine Mattigkeit, Gliederschmerzen, Schluckbeschwerden.

Bei Lazarettaufnahme am 6. XI. starke Druckempfindlichkeit besonders der Wadenmuskulatur, Mandelentzündung. 8. XI. Schlaflosigkeit.

10. XI. Leichter Ikterus. Druckempfindlichkeit der Gallenblasengegend.

11. XI. Starke Kopfschmerzen, Nasenbluten.

12. XI. Blutentnahme und Leberpunktion, danach Injektion von 10 ccm Rek.-Serum.

13. XI. Subjektive Besserung. Keine Gliederschmerzen. Der ganze Ikterus fast völlig abgeblaßt. Temperatur abgefallen.

14. XI. Nasenbluten.

15. XI. Ikterus der Skleren sehr gering. Wohlbefinden.

18.—21. XI. Geringe Temperaturerhöhung.

25. XI. Wohlbefinden.

12. XI. Kaninchen 483: 2,5 ccm i.v. † nach Injektion.

Kaninchen 484: 1,5 ccm i.v., gesund.

Meerschw. 485: 1,5 ccm i.p., gesund.

Fall Büch.

Diagnose: Weilsche Krankheit (Beginn am 19. XI. 1915).

Gliederschmerzen. Eiweiß im Urin. 20 ccm Serum, Schüttelfrost. 1 Stunde später 41°. Nachts kritischer Abfall. Fieberfrei. Ikterus intensiv.

27. XI. Meerschw. 385: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. Bei der Nachimpfung erkrankt.

Meerschw. 488: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. Bei der Nachimpfung erkrankt.

Urin von Fall Hess.

Schwerer Weil. Krank seit 22. VIII.

27. IX. 1915. Meerschw.: 0,5 ccm i.p., gesund geblieben.

14. X. nachgeimpft mit 1,0 ccm Mischblut. 23. X. gelb. † Befund typisch.

Meerschw.: 1,0 ccm i.m., gesund geblieben.

30. X. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei. 4. XI. gelb. 5. XI. †, Befund typisch.

Anhang: Rezidive bei Weilscher Krankheit.

Fall Schml.

Beginn am 18. IX. 1915.

7. X. 1915. 1) 3,0 ccm def. Blut i.p., gesund.

1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

2) 0,5 ccm def. Blut i.p., gesund.

1. XI. 1,0 ccm Leberbrei i.p. 7. XI. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) nicht untersucht.

Außerdem von vorstehenden Fällen: Haup., Hei., Kre. (s. oben p. 375, 452).

Negative Fälle (Verdacht auf Weil).

Fall Oppen.

Typhus oder Weil? Durch Boten defibriniertes Blut.

7. XII. Meerschw. 663: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 664: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Urin.

Meerschw. 661: 2,0 ccm i.p. 21. XII. †, nicht gelb.

Meerschw. 662: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Nachträgliche Feststellung: Hat Typhusbacillen im Stuhl als Rekonvaleszent in H.

Fall Thon.

Verdacht auf Weil, von der inneren Station verlegt.

Klinisch Typhus. Blut durch Boten.

12. XII. Meerschw. 762: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

4. I. nachgeimpft. 10. I. †, gelb.

Meerschw. 763: 2,0 ccm i.p., gesund.

4. I. nachgeimpft. 6. I. †, nicht gelb.

Fall Schrey.

Verdacht auf Weil oder Typhus, benommen.

Blut durch Boten geschickt.

23. X. 1915. Meerschw. 152: 1,5 ccm i.p., gesund geblieben.

1. XI. mit Leberbrei nachgeimpft. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Spir. (Leber) ++.

Meerschw. 153: 1,0 ccm i.p., gesund geblieben.

1. XI. nachgeimpft mit Leberbrei. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Spir. (Leber) ganz vereinzelt.

Patient unter Krämpfen gestorben (Tetanus?)

Ist keine Weilsche Krankheit gewesen.

Fall Carst.

Typhus oder Weil?

Mit Pneumonie dem Lazarett überwiesen. Am 7. Tage Ikterus und Durchfall. Urin: Kein Eiweiß, kein Diazo. Keine Milzschwellung. Temperatur, die anscheinend akut mit 39° C angesetzt hat, hält sich zwischen 38—39°.

14. XII. Meerschw. 774: 2,0 ccm Blut i.p. 22. XII. †, nicht gelb.

Fall Mis.

Verdacht auf Typhus und Weil.

5. XII. Meerschw. 605: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 606: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Fall Cla.

Typhus? Da Leberschwellung, Nasenbluten und Gliederschmerzen, Verdacht auf Weil.

27. XI. Meerschw. 169: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 429: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Fall Henn.

Typhus oder Weil? Fieber, Gliederschmerzen, Leber- und Milzschwellung, Benommenheit. Kein Eiweiß. Diazo 0. Verdächtig gelbe Skleren. Erkrankung schon seit längerer Zeit. 20 ccm Serum injiziert.

Schüttelfrost, Schweiß, 41,8°. Temperaturabfall, dann Anstieg auf 39,8. Gliederschmerzen geschwunden.

27. XI. Meerschw. 320: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 315: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Fall Ram.

Verdacht auf Weil.

Seit 2 Tagen Muskelschmerzen, Temperatursteigerung, Kopf-, Nackenschmerzen, Herpes.

Kein Ikterus. Im Urin deutlich Gallenfarbstoff.

Blut durch Boten gebracht.

2. XI. 1915. Meerschw. 246: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

Meerschw. 247: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Fall Schwa.

Verdacht auf Weil. Blut durch Boten.

10. XII. Meerschw. 736: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

3. I. nachgeimpft. 5. I. †, nicht gelb.

Meerschw. 737: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben. 5. I. †, nicht gelb.

Fall Mös.

Vom Vereinslazarett K. Verdacht auf Weil.

Klinisch unsicher!

5. XII. Verdacht auf Weil nicht bestätigt. (Meldung L.)

29. XI. Meerschw. 531: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Meerschw. 532: 2,0 ccm Blut i.p., gesund geblieben.

Fall Ulb.

Erkrankt am 16. X., Diagnose: Verdacht auf Weil, nicht gelb.

17. X. Blut durch Boten geschickt.

Meerschw. 40: 2,0 ccm i.c., gesund geblieben.

1. XI. mit Leberbrei nachgeimpft. 7. XI. †, nicht gelb, sonst Befund typisch.

Meerschw. 41: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

1. XI. mit Leberbrei nachgeimpft. 7. XI. gelb. † Befund typisch.

Am 19. X. noch einmal Blut und Urin durch Boten geschickt.

Meerschw. 71: 4,0 ccm i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch.

Meerschw. 72: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch.

Urin.

Meerschw. 73: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei i.p. 15. XI. gelb. † Befund typisch.

Fall Blaub.

Diagnose anfangs: Icterus catarrhalis — Weil. Endgültige Diagnose: Lebercirrhose.

30. X. 1915. Blut durch Boten gebracht.

1908 Gelbsucht. 21.—22. X. angeblich Kopfschmerz und Schüttelfrost. 25. X. Erbrechen und Durchfall. Benommenheit. Bei Aufnahme Haut und Schleimhäute gelb verfärbt. Leber überragt den Rippenbogen um 1—1½, Querfingerbreite. Gallenblase vergrößert, druckempfindlich. Milz: o. B. Urin: Gallenfarbstoff +, kein Eiweiß. Weiterhin Klagen über Uebelkeit, Brechreiz, Atembeschwerden, Herzdämpfung vergrößert. 8. XI. Leib aufgetrieben. Rücken Ikterus. 15. XI. Ascites.

17. XI. Somnolenz. Exitus.

Patient war dauernd fieberfrei.

30. X. 1905. Meerschw. 224: 1,9 ccm i.c., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 10. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) †.

Meerschw. 225: 3,0 ccm i.p. 1. XI. † o. B.

Fall Mart.

Diagnose: Icterus catarrhalis — Weil?

Am 25. IX. erkrankt. 30. IX. Gelbsucht. Hohes Fieber bei der Aufnahme, das bald abfiel. Vor 8 Tagen wieder Anstieg der Temperatur mit Albuminurie — Verdacht auf Weilsche Krankheit.

26. X. Meerschw. 183: 1,5 ccm i.c. 27. X. † o. B.

Meerschw. 184: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

6. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Urin.

Meerschw. 185: 2,0 ccm i.p. 4. XI. krank. 5. XI. † o. B., nicht gelb.

Fall Kuh.

Diagnose: Icterus catarrhalis — Weil?

Blut vom 17. XII.

18. XII. 1915. Meerschw. 823: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

7. I. nachgeimpft, typisch erkrankt.

Meerschw. 824: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

7. I. nachgeimpft, typisch erkrankt.

Fall Wol.

Diagnose: Icterus catarrhalis (Weil-Verdacht).

Blut mit Auto geholt.

Aufgenommen 26. X. 1915 Et.-L. M.

Seit 3 Wochen matt, ohne Appetit. Seit 22.—23. X. gelbe Hautfarbe.

27. X. Haut und Schleimhäute stark gelb gefärbt. Urin dunkel. Vergrößerung der Leber. Milz nicht fühlbar.

10. XI. Haut verliert die gelbe Färbung.

20. XI. Haut und Conjunctiven kaum noch gelb gefärbt. Wohlbefinden. Temperatur war dauernd normal.

27. X. 1915. Meerschw. 197: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

Nachgeimpft 6. XII. mit Leberemulsion i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich.

Meerschw. 198: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

Nachgeimpft 6. XII. mit Leberemulsion i.p. 12. XII. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

Fall Klüs.

Diagnose: Icterus catarrhalis (Weil-Verdacht).

Blut vom 15. XI.

Am 14. XI. Aufnahme ins Lazarett. Vor einigen Tagen mit Mattigkeit, Kopfschmerzen, Schwindel erkrankt. Will kein Fieber gehabt haben. Seit 2 Tagen Gelbfärbung der Haut. Bei der Aufnahme Temp. 36,3°, Leib etwas aufgetrieben. Leber überragt den Rippenbogen um 1 Querfinger, ist druckempfindlich. Gallenblase fühlbar, druckempfindlich. Milz

nicht fühlbar. Hautjucken. Keine Druckempfindlichkeit der Waden. Stuhl acholisch. Urin: Gallenfarbstoff + + +, kein Eiweiß.

18. XI. Ikterus blaßt ab. Schmerzen in der Leber lassen nach. Stuhl braun gefärbt. Im Urin Spuren von Gallenfarbstoff.

23. XI. Skleren noch ikterisch, Haut blaß. Noch geringe Vergrößerung der Leber. Temperatur dauernd normal. Kein Gallenfarbstoff im Urin.

26. XI. Leber nicht mehr vergrößert. Befinden gut.

Meerschw. 458: 1,0 ccm i.c. 17. XI. + o. B. Spir. (Leber) 0.

Meerschw. 289: 2,0 ccm i.p., gesund.

Fall Dorn. (s. oben Serumtitration p. 380).

Diagnose: Icterus catarrhalis — Weil?

Seit 5 Tagen Ikterus. Blutentnahme 31. X.

Aufgenommen 31. X. 1915 Et.-L. M.

Seit 25. X. Kopfschmerzen. Haut und Conjunctiven intensiv dunkelgelb. Leber und Milz nicht vergrößert. Urin braun. Blutentnahme.

10. XI. Subjektives Wohlbefinden. Ernährungszustand etwas schlechter.

20. XI. Gelbsucht hat nachgelassen.

Objektiv sonst keine pathologischen Veränderungen. Bei der Aufnahme am 31. X. 37,4°, sonst stets normale Temperatur.

1. XI. Meerschw. 239: 1,0 ccm i.c., gesund geblieben.

12. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 18. XII. gelb. + Befund typisch.

Meerschw. 240: 2,0 ccm i.p., gesund geblieben.

12. XII. nachgeimpft mit 2,0 ccm Leberbrei i.p. 18. XII. gelb. + Befund typisch.

Fall Ern. (s. oben Serumtitration p. 379).

Diagnose: Icterus catarrhalis oder Weil.

Will vor einigen Tagen heftige „Magenschmerzen“ gehabt haben. Kopfschmerzen und Frost. Angeblich kein Fieber. Soll seit einiger Zeit gelb ausgesehen haben. Am 15. X. Krankmeldung, da Gelbsucht zunahm.

16. X. Aufnahme ins Lazarett z. B. auf Weil. Leber vergrößert, überragt den Rippenbogen 1 Querfinger. Milz nicht fühlbar. Stuhl normal. Kein Fieber. Allmähliche Besserung.

29. X. Wegen Ulcus molle auf Station für Geschlechtskranke.

16. XI. Zurückverlegt. Noch deutlich ikterisch. Leber noch vergrößert. Urin ohne Gallenfarbstoff.

25. XI. Wohlbefinden. Hat kein Fieber.

18. X. 1915. Meerschw. 61: 1,0 ccm i.p., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei i.p. 14. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) + + +.

Meerschw. 62: 0,75 ccm i.c., gesund geblieben.

8. XI. nachgeimpft mit Leberbrei i.p. 14. XI. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) + + +.

Stammbäume.**Patient Bllen. (Harn, s. p. 454).**

16./12. 1915. Meerschw. 800: 28./12. Meerschw. 801: 27./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

27./12. Meerschw. 908: 3./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 909: 3./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

3./1. Meerschw. 979: 7./1. †, nicht gelb. Meerschw. 980: 7./1. †, nicht gelb. Befund 0.

7./1. Meerschw. 101: 11./1. †? Befund 0.

Passage abgerissen.

Patient Bög. (Blut vom 16./12., s. p. 454).

16./12. 1915. Meerschw. 802: 25./12. †, gelb. Befund typ. Spir. (Leber) +. Meerschw. 803: 25./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

25./12. Meerschw. 890: 28./12. †, Befund 0. Meerschw. 891: 28./12. † nicht gelb. Spir. (Leber) +. Befund typisch.

28./12. Meerschw. 916: 3./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 917: 1./1. † nicht gelb. Spir. (Leber) ?

3./1. Meerschw. 985: 16./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 986: 6./1. † gelb? Spir. (Leber) 0.

16./1. Meerschw. 7: 22./1. †, gelb. Befund typisch. Meerschw. 8: 24./1. gelb. † Befund typisch.

Passage aufgegeben (Tiermangel!).

Fall Bern. (Blut).

9./1. 1916. Meerschw. 138: 18./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 139: 18./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

18./1. Meerschw. 16: 24./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 17: 24./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

24./1. Meerschw. 47: 1./2. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

1./2. Meerschw. 68: 2./2. †. Frühgeburt!

Passage abgerissen.

Patient Schu. (s. oben p. 451).

Urin:
Meerschw. Kopf blau: 1.0
ccm i.p. 17./10. gelb.
18./10. + Befund typisch.

Meerschw. hinten rot: def.
Blut 2.0 ccm i.p. 17./10.
gelb. + Befund typisch.

Meerschw. Rücken rot: def. Blut
2.0 ccm i.p. 19./10. gelb. 20./10.
entblutet. + Befund typisch.
Spir. (Leber) +.

9./10. 1915. Meerschw. Kopf rot:
def. Blut 0.75 ccm i.c. 17./10.
gelb. 19./10. + Befund typisch.

17./10. Meerschw. 44: Blutauf-
schwemmung. 22./10. schwach
gelb. 23./10. gelb; entblutet.
+ Befund typisch. Spir. (Leber)
++.

Meerschw. 45: Leberaufschwem-
mung 2.0 ccm i.p. 22./10.
schwach gelb. 23./10. + Be-
fund typisch. Spir. (Leber)
++.

23./10. Meerschw. 150: Def. Blut
2.0 ccm i.p. 28./10. gelb. + Be-
fund typisch.

28./10. Meerschw. 205: vom le-
benden Tier 150 1.0 ccm i.c.,
bleibt gesund.
8./11. Meerschw. 205 getötet: Le-
ber auf Meerschw. 380, gesund.

Meerschw. 206: vom lebenden
Tier 1.5 ccm i.p., bleibt ge-
sund.
Meerschw. 206 getötet: Leber auf
Meerschw. 382, gesund.

Passage abgerissen.

Patient Pöt. (Blut, s. p. 455).

29./4. 1916. Meerschw. 257. 9./5. gelb. +
Befund typisch. Spir. (Leber) +.

9./5. 1916. Meerschw. 269. 17./5. gelb. +
Befund typisch. Spir. (Leber) +.

17./5. 1916. Meerschw. 274. 23./5. gelb. +
Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Passage abgebrochen (Tiermangel).

Patient Bey. (s. p. 462).

Fall vom 15./12. 1915. Blut.

15./12. 1915. Meerschw. 789: 23./12. Meerschw. 790: 23./12. gelb. †
gelb. † Befund typisch. Spir. Befund typisch. Spir. (Le-
(Leber) +. ber) +.

23./12. Meerschw. 862: 28./12. Meerschw. 863: 28./12. †, Be-
gelb. † Befund typisch. Spir. fund 0.
(Leber) +.

28./12. Meerschw. 920: 3./1. gelb. † Meerschw. 921: 4./1. gelb. † Be-
Befund typisch. Spir. (Leber) +. fund typisch. Spir. (Leber) +.

3./1. Meerschw. 981: 5./1. † nicht 3./1. Meerschw. 982: 7./1. †, 4./1. Meerschw. 987:
gelb. Spir. (Leber) 0. gelb? Spir. (Leber) 0. 10./1. † gelb? Spir.
(Leber) ?

10./1. Meerschw. 302: 14./1. † nicht
gelb. Spir. (Leber) ? Schlechtes
Präparat.

Passage abgerissen.

Patient Fra. (s. p. 447).

12./10. 1915. Meerschw. Kopf rot: Def. Blut Meerschw. Rücken rot: Def. Blut 2,0 ccm
2,0 ccm i.c. 18./10. gelb. 19./10. † ent- i.p. 18./10. gelb. Befund typisch.
blutet. Befund typisch.

19./10. Meerschw. 63: Def. Blut 1,0 ccm Meerschw. 64: Def. Blut 1,5 ccm i.p.
i.c. 23./10. gelb. 24./10. gestorben. Be- 23./10. gelb. 25./10. † Befund typisch,
fund typisch. Spir. (Leber) ++. Spir. (Leber) ++.

Passage nicht weiter geimpft (Tiermangel).

Patient Hel. (s. p. 453).

7./10. 1915. Meerschw. gelbschwarz: Def. Meerschw. Angore: Def. Blut braunschwarz
Blut 3,0 ccm i.p. 16./10. gelb. 17./10. 1,5 ccm i.c. 17./10. gelb. 19./10. † Be-
gelb. † Befund typisch. fund typisch. Spir. + (wenig).

16. 10. Meerschw. 33: Herzblut punktiert vom lebenden
Tier 0,5 ccm i.c. 23./10. ? entblutet. Befund Lunge
typische Herde sonst 0. Spir. (Leber) ++.

23./10. Meerschw. 149: Def. Blut 1,0 ccm i.p., bleibt ge-
sund. 19./11. 2,0 ccm Leberbrei nachgeimpft, gesund.

Passage abgerissen.

Patient Dom. (Blut).

23./12.1915. Meerschw. 875: 3./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 876: 1./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

1./1. Meerschw. 968. 7./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 969: 6./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

7./1. Meerschw. 996. 16./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

16./I. Meerschw. 3: 22./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 4: 22./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

22./1. Meerschw. 41: 27./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

27./1. Meerschw. 61: 30./1. †? nicht gelb.

Passage abgerissen.

Patient Br. (ohne Ikterus, Laboratoriumsinfektion, s. oben p. 450).

11./11.1915. Meerschw. 451: def. Blut und NaCl 5,0 ccm i.p. 18./11. gelb. 19./11. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

19./11. Meerschw. 400: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 24./11. gelb? krank, entblutet. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Meerschw. 403: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 23./11. †, Pneumonie, nicht gelb. Spir. (Leber) + spärlich.

24./11. Meerschw. 447: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 29./11. gelb. † Befund typ. Spir. (Leber) + + +.

Meerschw. 492: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 29./11. gelb. † Befund typ. Spir. (Leber) + + +.

29./11. Meerschw. 529: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 4./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + +.

Meerschw. 530: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 4./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + +.

4./12. Meerschw. 593: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 9./12. Befund ?

Meerschw. 594: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 9./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

9./12. Meerschw. 682: 15./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

15./12. Meerschw. 785: 2,0 ccm Leberaufschwemmung i.p. 20./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

Passage aufgegeben (Tiermangel).

Patient M. (ohne Ikterus, Laboratoriumsinfektion, s. oben p. 451).

28./11.1915. Meerschw. 527: Blut 2,0 ccm i.p. 5./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. Meerschw. 528: Blut 2,0 ccm i.p. 5./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

5. 12. Meerschw. 595: Leber u. Blut 2,0 ccm i.p. 11./12. † gelb. Befund typisch. Spir. (Leber) ++. Meerschw. 596: Leber und Blut 2,0 ccm i.p. 10./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++.

10./12. Meerschw. 702: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 15./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++. Meerschw. 703: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 18./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

18./12. Meerschw. 816: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 23./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++. Meerschw. 817: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 22./12. gelb. † Befund typisch.

23./12. Meerschw. 868: 28./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++. Meerschw. 869: 28./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +++.

22./12. Meerschw. 859: 27./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ++. Meerschw. 860: 27./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

27./12. Meerschw. 906: 31./12. †, gelb. Befund typisch. Meerschw. 907: 3./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

3./1. Meerschw. 977: 8./1. gelb. † Befund typisch. Meerschw. 978: 8./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.

8./1. Meerschw. 102: 15./1. + ? 8./1. Meerschw. 105 8./1. Meerschw. 106
am 9./1. nach Straßburg geschickt.

Patient Fried. (s. p. 450).

- | | | |
|--|--|---|
| 1./11. 1915. Meerschw. 236: def. Blut 1,0 ccm i.c. 7./11. gelb. 8./11. †. Befund typisch. Spir. (Leber) +. | Meerschw. 237: def. Blut 2,0 ccm i.p. 7./11. gelb. † Befund typisch. | Urin: 2,0 ccm i.p. bleibt gesund. |
| 8./11. Meerschw. 353: def. Blut 0,5 ccm i.c. 13./11. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + + + +. | Meerschw. 354: def. Blut 1,0 ccm i.p. 13./11. ? 14./11. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + + +. | |
| 13./11. Meerschw. 492: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 17./11. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | | |
| 17./11. Meerschw. 256: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 21./11. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + +. | Meerschw. 453: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 22./11. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + +. | |
| 21./11. Meerschw. 74: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 29./11. † Befund typisch. Spir. (Leber) + + + +. | Meerschw. 266: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 27./11. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + +. | |
| 27./11. Meerschw. 501: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 4./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | Meerschw. 502: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 4./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | |
| 4./12. Meerschw. 585: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 10./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) ?. | Meerschw. 586: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 10./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) + spärlich. | |
| 10./12. Meerschw. 704: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 16./12. †, gelb? | Meerschw. 705: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 16./12. gelb. † Befund typisch. | |
| 16./12. Meerschw. 793: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 22./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | Meerschw. 794: Leberaufschwemmung 2,0 ccm i.p. 21./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | |
| 22./12. Meerschw. 857: 28./12. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | Meerschw. 858: 30./12. gelb. 3./1. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | |
| 28./12. Meerschw. 914: 4./1. gelb. Befund typisch. | Meerschw. 915: 3./1. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +. | |
| 4./1. Meerschw. 988: 8./1. †? gelb. Befund typisch. | 3./1. Meerschw. 983: 7./1. †, nicht gelb. | 3./1. Meerschw. 984: 8./1. †, nicht gelb. |
- Passage aufgegeben (Tiermangel).

Patient Ress. (Blut, s. p. 455).		
23./12. 1915. Meerschw. 873. 1./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 874. 3./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
1./1. Meerschw. 965. 7./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 967. 7./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
7./1. Meerschw. 999. 16./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 1000. 15./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
16./1. Meerschw. 5. 24./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 6. 24./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
15./1. Meerschw. 1. 25./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 2. 22./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
25./1. Meerschw. 48. 30./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 42. 27./1. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
30./1. Meerschw. 64. 3./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 60. 1./2. + Befund ?.	
	Meerschw. 69. 2./2. + Befund ?.	
3./2. Meerschw. 80. 8./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 81. 8./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
8./2. Meerschw. 85. 14./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 86. 14./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
14./2. Meerschw. 87. 19./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 88. 19./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
19./2. Meerschw. 103. 24./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	Meerschw. 104. 24./2. gelb. + Befund typisch. Spir. (Leber) +.	

24./2. Meerschw. 116. 25./2. †, Befund 0.	Meerschw. 117. 25./2. †, Befund 0.	24./2. Meerschw. 113. 1./3. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.
8./3. Meerschw. 173. 14./3. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	1./3. Meerschw. 145. 8./3. gelb. † Befund typisch.	Meerschw. 146. 7./3. gelb. † Befund typisch.
14./3. Meerschw. 189. 20./3. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	7./3. Meerschw. 158. 21./3. †, nicht gelb. Befund 0.	7./3. Meerschw. 159. 10./3. †, nicht gelb. Befund 0.
20./3. Meerschw. 197. 23./3. †, Befund ?	Meerschw. 190. 18./3. †, gelb. Befund 0.	
23./3. Meerschw. 202. 30./3. †, nicht gelb, aber positive Lungen- und Leberherde!	Meerschw. 198. 25./3. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.	
30./3. Meerschw. 215. 4./4. †, nicht gelb, aber positive Lunge.	25./3. Meerschw. 204. 30./3. †, nicht gelb.	Meerschw. 205. 1./4. †, nicht gelb, aber Lunge +.
4./4. Meerschw. 236 (Herzblut von 215). 12./4. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.		1./4. Meerschw. 226. 6./4. †, nicht gelb. Befund 0.
12./4. Meerschw. 241. 18./4. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.		
18./4. Meerschw. 245. 24./4. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.		
24./4. Meerschw. 248. 29./4. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.		
29./4. Meerschw. 256. 3./5. gelb. † Befund typisch. Spir. (Leber) +.		
25. Meerschw. 255. 2./5. gelb. † Befund	Meerschw. 256. 3./5. gelb. † Befund	
4./3. 5./3. pis	28. 2 4./ ty	24. 2 28 ty
19. 2 24 ty	14./2 ty	6./2 ty
31./1 ty	26. 1 ty	20./1 ty
13./1 fu	6./1 ty	1./1 ty
23. 18 Bel		

Fragebogen.

(Dienststelle)

(Datum)

Erhebungen über einen Fall von Icterus infectiosus.

1. Name, Vorname, Dienstgrad (Dienststelle), Truppenteil (Kompagnie, Batterie, Schwadron etc.):

2. Seit wann im Felde?

3. Alter, Zivilberuf (Beschäftigung), Aufenthaltsort vor dem Kriege:

4. Beginn der Erkrankung (nach Tag und Stunde):

5. Ort und Tag der Krankmeldung:

6. Aufenthalt seit Krankmeldung (nach Ort und Tag) und Abtransport nach:

7. **Klinische Erscheinungen bei Beginn der Erkrankung** (Nicht-beobachtetes durchstreichen):
Mäßiges, starkes Krankheitsgefühl; Mattigkeit; Fieber; Frösteln, Schüttelfrost; Schweißausbruch; Uebelkeit; Brechreiz; Erbrechen; Schwindel; Benommenheit; mäßige, starke Kopfschmerzen; Schluckbeschwerden; Halsschmerzen; Husten; schleimiger, eitriger, blutiger Auswurf; mäßige, starke Leibschmerzen; Augenschmerzen; häufige Durchfälle; Verstopfung; Schleim, Blut im Stuhl; Schmerzhaftigkeit welcher Muskeln:

Gelbsucht seit wann: _____ Roseolen: _____
Nieren: _____ Leber: _____
Gallenblase: _____ Sonstiges: _____
8. Frühere Erkrankungen (Ikterus, Lues, Ruhr, Typhus, Malaria u. a.):

9. Körperbeschaffenheit:

10. Aufenthalt des Erkrankten vier Wochen rückwärts von Beginn der Erkrankung mit genauester Angabe von Ort und Datum:
.....
.....
11. Befanden sich in der Nähe Wasserläufe, Seen, sumpfiges Gelände:
.....
12. Wie waren die Witterungsverhältnisse in den letzten Wochen (naß, heiß, kalt, trocken etc.):
.....
13. Wo, wie oft, wie lange gebadet:
Hat er viel geschwommen:
14. Woher gewöhnlich das Waschwasser genommen:
15. Woher gewöhnlich das Trinkwasser:
16. Ist in den letzten Wochen eine Aenderung in der Verpflegung eingetreten:
Wie oft sind Konserven (Fleisch und Gemüse) verabreicht:
17. Ist er in den letzten Wochen starken körperlichen Anstrengungen in hohem Maße ausgesetzt gewesen:
18. War der Erkrankte mit Erdarbeiten beschäftigt:
Wo und wie lange:
19. War der Erkrankte Erkältungen und Durchnässungen ausgesetzt:
.....
Waren die Unterkünfte feucht und zugig:
20. War er mit Läusen behaftet und in welchem Grade:
21. Sind in dem Aufenthaltsort Mücken bemerkbar gewesen:
Flöhe:
22. Ist der Erkrankte der Fliegenplage (Stechfliege) stark ausgesetzt gewesen:
23. Hat der Erkrankte mit der Pflege von Tieren zu tun gehabt:
.....
24. Haben Berührungen oder Beziehungen mit anderen Ikteruskranken bestanden:
25. Sonstige Anhaltspunkte für eine Infektion:
.....
.....

.....
(Unterschrift)

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. An Weilscher Krankheit eingegangenes Meerschweinchen: gelbe Verfärbung der Haut, Unterhaut, der Knorpel; ausgedehnte Hämorrhagien in der Unterhaut, im Peritoneum, in den Bauchorganen und der Lunge.

Tafel II.

Organe eines an Weilscher Krankheit eingegangenen Meerschweinchens:

Fig. 2. Leber: durchsetzt mit gelbrötlichen Herden.

Fig. 3 und 4. Lunge: zahlreiche Blutungsherde verschiedener Größe.

Fig. 5. Lungenschnitt: Blutungen in die Alveolarräume.

Tafel III.

Fig. 6. Spirochäten der Weilschen Krankheit im Ausstrich von Meerschweinchenleber, Dauerfärbung mit verdünnter Giemsa-Lösung.

Fig. 7. Leberschnitt, gefärbt nach Levaditi.

Tafel IV.

Fig. 8. Exanthem bei Weilscher Krankheit (Fall Schnei., p. 447). Die Aufnahme verdanken wir Oberstabsarzt Herbach.

Fig. 9. Reinkulturen von Spirochäten der Weilschen Krankheit (im Nährboden nach Ungermann); Dauerfärbung mit verdünnter Giemsa-Lösung. [Nach Präparaten von Stabsarzt Dietrich, phot. von E. Zettnow¹⁾.]

Tafel V.

Fig. 10 wie Fig. 9.

Fig. 11 und 12. Schnitte von Meerschweinchenlebern, gefärbt nach Levaditi. (Nach Präparaten von Stabsarzt Dietrich, phot. von E. Zettnow.)

Tafel VI.

Fig. 13—15. Ausstriche von Meerschweinchenlebern, Dauerfärbung mit verdünnter Giemsa-Lösung (phot. von E. Zettnow).

1) Herrn Prof. Zettnow und Herrn Stabsarzt Dietrich sei auch an dieser Stelle unser aufrichtigster Dank ausgesprochen.

(G. C.)

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4574

1.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

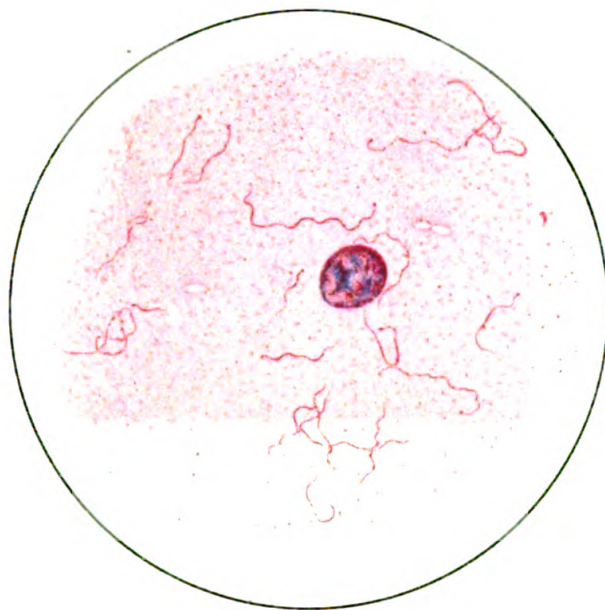
Lith. Anst. v. A. Giltisch, Jena.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA



6.



7.



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. A. Gutsch, Jena.



Fig. 8.

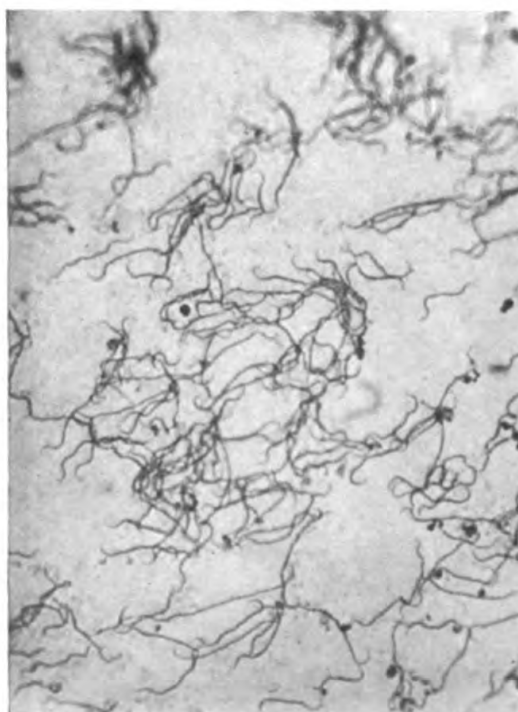


Fig. 9.

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**

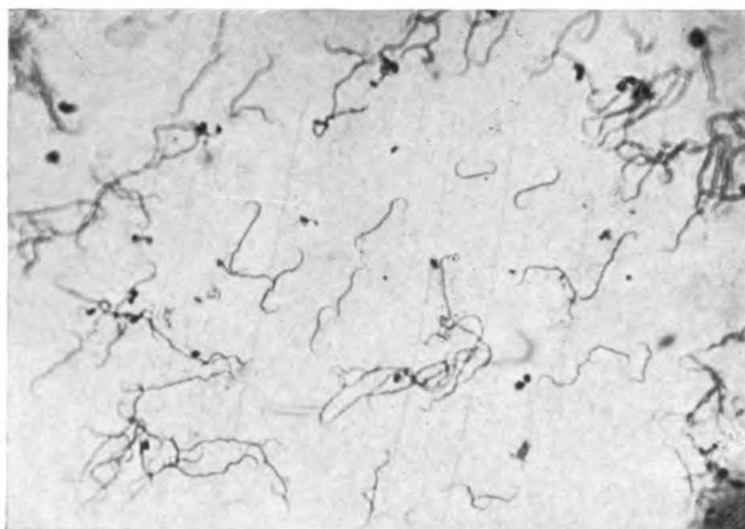


Fig. 10.

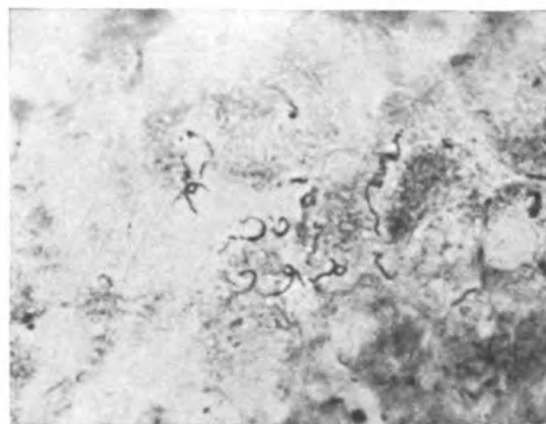


Fig. 11.

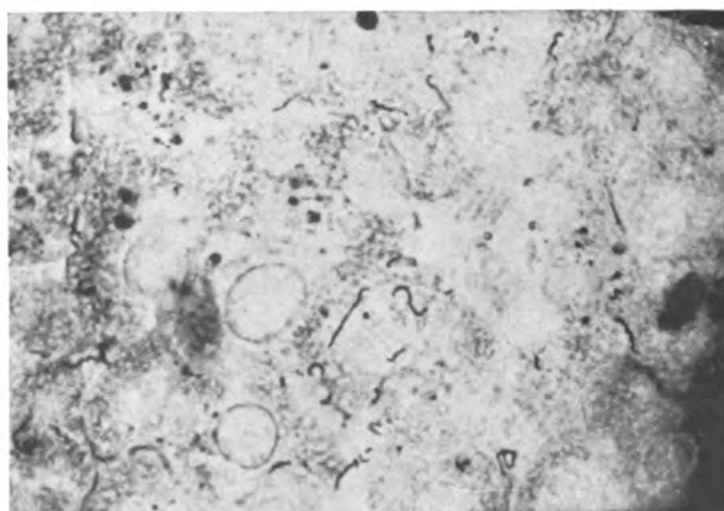


Fig. 12.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

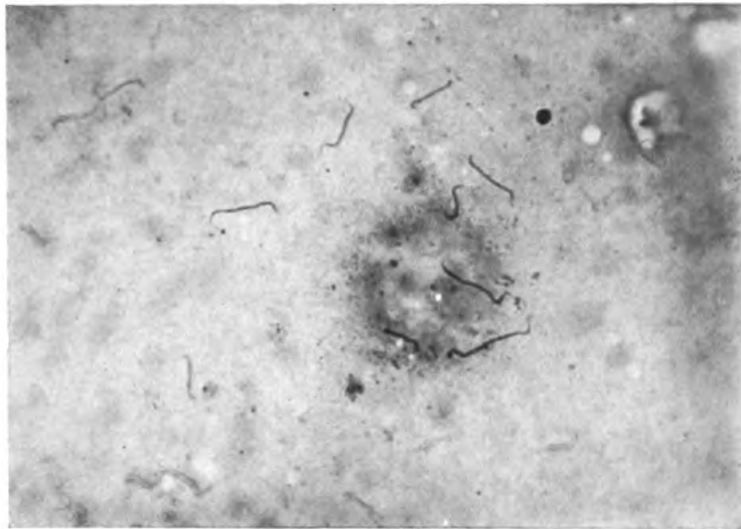


Fig. 13.

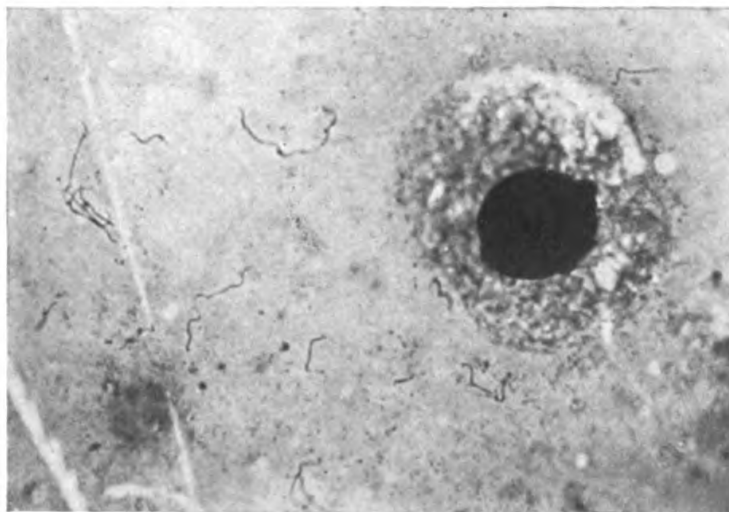


Fig. 14.

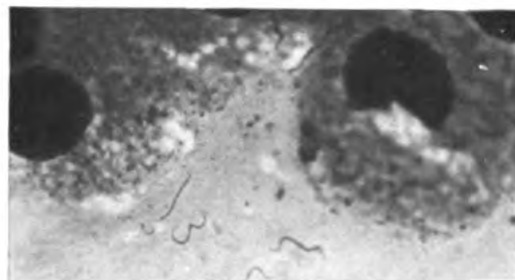


Fig. 15.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

5.



